

Untersuchung zur Eignung
renal ausgeschiedener modifizierter Nukleoside
in der Frühdiagnostik und in der
Verlaufskontrolle von nicht-kleinzelligen
Bronchialkarzinomen

DISSERTATION

zur Erlangung des akademischen Grades

DR. MED.

an der Medizinischen Fakultät der Universität Leipzig

Eingereicht von Heidi Elisabeth Pastaschek,
geboren am 22.04.1983 in München/Bayern

Angefertigt am Institut für Umweltmedizin und Hygiene,
Universität Leipzig

Betreuer: Prof. Dr. Olf Herbarth
Dr. Annerose Seidel

Beschluss über die Verleihung des Doktorgrades vom: 22.11.2011

MEINEN LIEBEN ELTERN

BIBLIOGRAPHISCHE BESCHREIBUNG:

Pastaschek, Heidi Elisabeth

Untersuchung zur Eignung renal ausgeschiedener modifizierter Nukleoside in der Frühdiagnostik und in der Verlaufskontrolle von nicht-kleinzelligen Bronchialkarzinomen

Universität Leipzig, Dissertation

Seiten 96, Literaturangaben 87, Abbildungen 42, Tabellen 50

REFERAT:

Das Bronchialkarzinom weist bei beiden Geschlechtern sowohl in den USA als auch in Deutschland eine hohe Inzidenz auf und sorgt zudem für eine beträchtliche malignombedingte Mortalität. Trotz diverser Forschungsansätze zu einer verbesserten Diagnostik des Bronchialkarzinoms wurde bisher keine befriedigende Methode entdeckt, mit welcher Patienten zu einem ausreichend frühen Zeitpunkt erfasst werden können. In den meisten Fällen erfolgt die Diagnose des Lungenkarzinoms erst in einem fortgeschrittenen Stadium anhand der tumorbedingten Symptome.

In der hier vorliegenden Studie prüften wir die Eignung renal ausgeschiedener modifizierter Nukleoside als potentielle Tumormarker in der Frühdiagnostik und Verlaufskontrolle von nicht-kleinzelligen Bronchialkarzinomen. Alle unsere Patienten erhielten im Rahmen ihrer Krebserkrankung eine Resektion des Bronchialkarzinoms. Im Speziellen verglichen wir die präoperativen und postoperativen Konzentrationen von 13 Nukleosiden im Urin unserer Lungentumorpatienten mit den Nukleosidwerten unserer Kontrollgruppe.

Anhand unserer Ergebnisse konnten wir den Nutzen renal eliminierten modifizierter Nukleoside als geeignete Marker für die Frühdiagnostik und Verlaufskontrolle des nicht-kleinzelligen Bronchialkarzinoms eindeutig aufzeigen.

INHALTSVERZEICHNIS

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS	7
Allgemeine Abkürzungen	7
Abkürzungen verwendeter Nukleoside und der Harnsäure	10
1. EINLEITUNG	1
1.1 Das Bronchialkarzinom	1
1.1.1 Klassifikation, Ätiologie und Epidemiologie	1
1.1.2 Pathomorphologie und Prognose	3
1.1.3 Diagnostik und Therapie	8
1.1.3.1 Diagnostik	8
1.1.3.2 Therapie und Verlaufskontrolle	10
1.2 Modifizierte Nukleoside und tRNA	11
1.2.1 Aufbau der tRNA und modifizierte Nukleoside	11
1.2.2 Funktion der tRNA in der Proteinbiosynthese	17
1.2.3 Abbau der tRNA und Elimination der modifizierten Nukleoside	18
1.3 Modifizierte Nukleoside als Tumormarker	20
1.4 Zielstellung der Arbeit	21

2. METHODIK	23
2.1 Probenauswahl und Probensammlung	23
2.2 Die Hochdruckflüssigkeitschromatographie	26
2.3 Analyse modifizierter Nukleoside mit Hilfe der HPLC	27
2.4 Statistische Auswertung	28
3. ERGEBNISSE	30
3.1 Deskriptive Auswertung	30
3.2 Analytische Auswertung	51
3.3 Spezifitäten und Sensitivitäten	55
4. DISKUSSION	60
4.1 Eignung modifizierter Nukleoside für die Frühdiagnostik und frühe Prognose des NSCLC	60
4.2 Eignung modifizierter Nukleoside zur Verlaufskontrolle des NSCLC	62
4.3 Verlaufsbeobachtung modifizierter Nukleoside bezüglich Operationsverfahren und NSCLC-Subtypen	66
4.4 Neue Erkenntnisse	67
4.4.1 Erhöhte ZMG-Konzentrationen als prognostischer Marker	67

4.4.2 Nukleoside als Tumormarker in der Frühdiagnostik und Verlaufskontrolle des NSCLC	68
4.4.3 Unterschiedliche Nukleosidkonzentrationen bei den einzelnen Operationsverfahren und verschiedenen NSCLC-Subtypen	69
4.5 Kritische Eigenbetrachtung	69
4.6 Schlussfolgerung	70
5. ZUSAMMENFASSUNG DER ARBEIT	72
6. LITERATURVERZEICHNIS	76
7. ANHANG	85
8. DANKSAGUNG (NICHT VERÖFFENTLICHT)	94
9. ERKLÄRUNG ÜBER DIE EIGENSTÄNDIGE ABFASSUNG DER ARBEIT	95
10. CURRICULUM VITAE (NICHT VERÖFFENTLICHT)	96

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

Allgemeine Abkürzungen

Abb.	Abbildung
ASB	Autofluoreszenzbronchoskopie
β	Beta; griechischer Buchstabe
Blsp	Blutspender
Bq	Bequerel
bzw.	beziehungsweise
C	Cytidin
°C	Grad Celsius
Ca.	Karzinom
ca.	circa
CEA	Carcino-embryonales Antigen
CIS	Carcinoma in situ
COPD	Chronische obstruktive Lungenerkrankung
Crea	Kreatinin
CT	Computertomographie
Dent	Studenten der Zahnmedizin
DNA	Desoxyribonukleinsäure
3-D	dreidimensional
E. coli	Escherichia coli
et al.	„et alii“; „et aliae“; und andere
Geb.-datum	Geburtsdatum
h	Stunde
HeLa-Zellen	menschliche Epithelzellen eines Zervixkarzinoms (nach Helen Lane)

HPLC	Hochdruckflüssigkeitschromatographie
Hsa-miR-205	Humanes Serum Albumin- Micro Ribonukleinsäure-205
IgG	Immunglobulin G
K	Kontrollgruppe (in Tabellen)
Kon.	Kontrollgruppe (in Graphen)
Kl.	Klasse
Keil-/Segmentres.	Keil-/Segmentresektion
Kfz	Kraftfahrzeug
K-S-Test	Kolmogorow-Smirnow-Test
LT verst.	Verstorbene Lungentumorpatienten
LT alle	alle Lungentumorpatienten
m	männlich
M	Metastasen
m ³	Kubikmeter
max.	maximal
Med	Studenten der Medizin
min	Minute
ml	Milliliter
μl	Mikroliter
μm	Mikrometer
μmol	Mikromol
mRNA	messenger Ribonukleinsäure
MTU-1	Mitochondriale tRNAspezifische 2- Thiouridylase 1
MW	Mittelwert
n	Anzahl
N	Lymphknoten
nmol	nanomol
n.s.	nicht signifikant
NSCLC	Non-small-cell lung carcinoma
Op.	Operation
Pharm	Studenten der Pharmakologie
postop	postoperativ

präop	präoperativ
Prob.-datum	Probendatum
Prob.-Nr.	Probennummer
%	Prozent
qRT PCR	Real-Time quantitative Polymerase-Kettenreaktion
rel.	relativ
RNA	Ribonukleinsäure
rRNA	ribosomale Ribonukleinsäure
s.	siehe
SCLC	Small-cell lung carcinoma
SD	Standarddeviation (Standardabweichung)
SE	Standarderror, Standardfehler
snRNA	small nuclear Ribonukleinsäure
SOP	Standard operating procedure
SPE	Solid-Phase-Extraction
Sport	Studenten der Sportwissenschaften
St.	Sankt
TNM-System/-Klassifikation	System zur Stadieneinteilung maligner Tumoren
T	Tumor
t	Zeit
Tab.	Tabelle
tRNA	transfer-Ribonukleinsäure
UICC	Union internationale contre le cancer (Krebshilfeorganisation)
USA	Vereinigte Staaten von Amerika
UV	ultraviolett
w	weiblich
WT-1	Wilms Tumor-1 (Gen)
2-D	zweidimensional

Abkürzungen verwendeter Nukleoside und der Harnsäure

Adenosin	ADE
1-Methyladenosin	EMA
6-Methyladenosin	SMA
5-Methylcytidin	FMC
1-Methylguanosin	EMG
2-Methylguanosin	ZMG
7-Methylguanosin	SMG
Inosin	INO
1-Methylinosin	EMI
Uridin	URI
5-Methyluridin	FMU
Pseudouridin	PSI
Harnsäure	HS

1. EINLEITUNG

1.1 Das Bronchialkarzinom

1.1.1 Klassifikation, Ätiologie und Epidemiologie

Das Bronchialkarzinom steht bei beiden Geschlechtern in den Vereinigten Staaten von Amerika (USA) an erster Stelle malignombedingter Todesursachen (Jemal A et al. 2008).

Während es in Deutschland auch bei Männern mit großem Abstand vor dem Prostatakarzinom und dem Dickdarmkarzinom an erster Stelle tumorbedingter Mortalität steht, stellt es bei Frauen noch die zweithäufigste Todesursache durch maligne Neoplasien hinter dem Mammakarzinom dar (<http://www.gbe-bund.de>).

Für die kommenden Jahre wird in Deutschland jedoch etwas verzögert eine ähnliche Entwicklung in der Todesursachenstatistik für Frauen erwartet, wie in den USA bereits eingetreten. Dies lässt sich durch den erhöhten Tabakrauchkonsum der Frauen begründen, der erst etwa zwei Jahrzehnte nach dem der Männer eintrat (Levi F et al. 1999).

Entsprechend der Todesursachenstatistik des Statistischen Bundesamtes hat sich in Deutschland die Mortalitätsrate für das Bronchialkarzinom bei Männern zwischen 1998 und 2007 mit etwa 29.000 Todesfällen pro Jahr stabilisiert. Bei Frauen hingegen wurde eine deutliche Zunahme bronchialkarzinombedingter Sterbefälle um ca. 25 % von insgesamt 9.285 im Jahre 1998 auf 12.374 im Jahre 2007 verzeichnet (<http://www.gbe-bund.de>). Von Jemal A et al. (2008) wurde für die USA sogar eine leicht rückläufige Tendenz lungentumorbedingter Mortalität unter Männern beschrieben.

Als größter Risikofaktor für die Entstehung eines Bronchialkarzinoms gilt mit ungefähr 85% der aktive Tabakrauchkonsum (Abb. 01), auch wenn in Anlehnung an Häußinger K und Kohlhäufel M (2005) nur ungefähr 10% der Raucher ein Lungenkarzinom entwickeln. Gemäß Shopland DR et al. (1990) weisen männliche Raucher allerdings ein 22-fach höheres und weibliche Raucher ein 12-

fach höheres Risiko für ein Bronchialkarzinom auf als Nichtraucher. Das Risiko für einen Lungentumor korreliert dabei direkt mit der Menge des Tabakkonsums beziehungsweise den sogenannten „pack years“. Als „pack year“ bezeichnet man das Produkt aus der Zahl der pro Tag gerauchten Zigarettschachteln und der Raucherjahre.

Das Risiko an einem Lungentumor zu erkranken, wird jedoch neben dem aktiven Tabakrauchkonsum auch durch eine Passivrauchexposition um 20% bis 24% erhöht (Jöckel KH 2000; Jakaala MS 2000). Bei einer länger als 10 Jahre bestehenden Passivrauchexposition am Arbeitsplatz durch stark verrauchte Arbeitsräume wurde ein fast doppelt so hohes Krebsrisiko verglichen mit keiner oder nur geringer Rauchbelastung beschrieben (Boffetta P et al. 1998).

Weitere Ursachen für die Entstehung eines Bronchialkarzinoms sind neben Ernährungsgewohnheiten, Vernarbungen im Lungengewebe wie nach Tuberkulose-Erkrankung, chronischen interstitiellen Lungenerkrankungen und Röntgenstrahlen auch genetische Faktoren. Chronische interstitielle Lungenkrankheiten wie die COPD erhöhen die Krebsinzidenz um das 14-fache (Bittmann I und Müller-Höcker J 2006). Das Erkrankungsrisiko Angehöriger ersten Grades von Patienten mit einem Bronchialkarzinom ist unabhängig von allen Risikofaktoren um das 2,5-fache erhöht (Müller-Höcker G 2003).

Auch berufsbedingte Karzinogene oder bestimmte Arten der Umweltverschmutzung sind für die Ätiologie des Bronchialkarzinoms verantwortlich (Abb. 01).

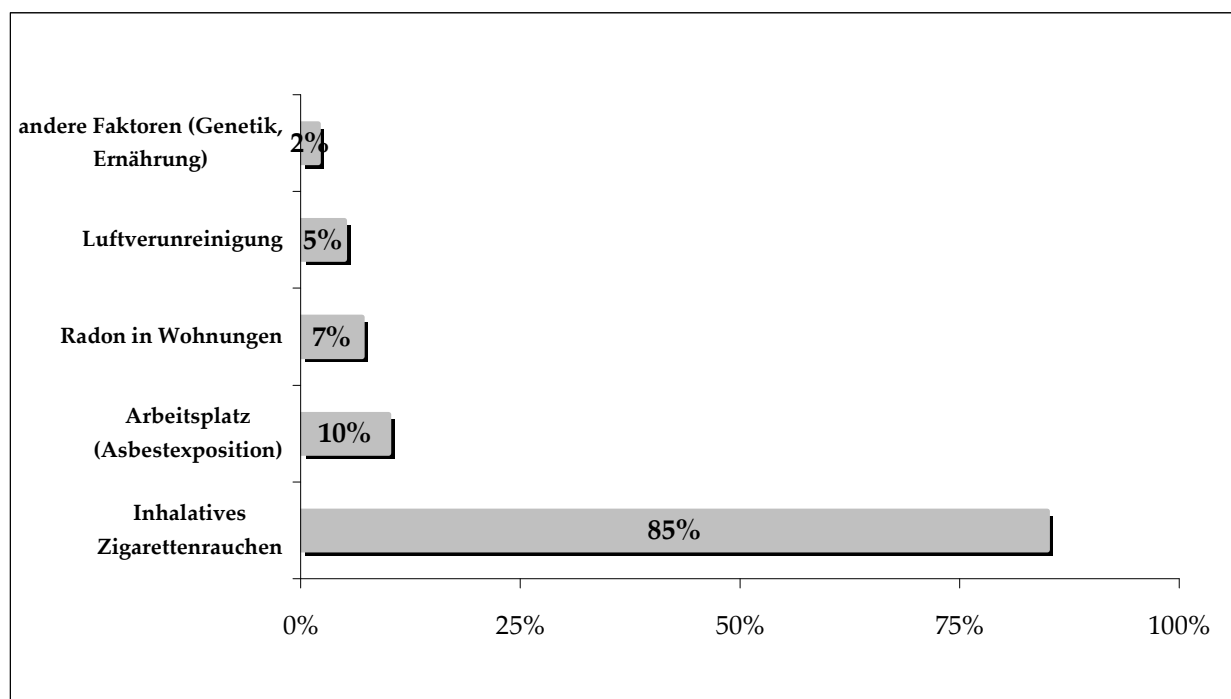


Abb. 01 Ätiologie des Bronchialkarzinoms (Häußinger K und Kohlhäufel M 2005)

Schon seit längerem ist bekannt, dass ein Kausalzusammenhang zwischen der Entwicklung eines Bronchialkarzinoms und der Exposition gegenüber bestimmten berufsbedingten Karzinogenen besteht. Als sicher krebserregend gelten unter anderem Asbest, Arsen und Chrom-6-Verbindungen. Bei gleichzeitig bestehendem langjährigen aktiven Tabakrauchkonsum und Asbestexposition kommt es zu einem exponentiellen Anstieg des Lungenkrebsrisikos.

Als wichtigste umweltbezogene Risikofaktoren gelten Radon und Abgase aus Kraftfahrzeugen mit Dieselerbrennungsmotoren. Radon besitzt die Eigenschaft, im Rahmen des natürlichen Zerfalls als gasförmiges Teilchen in die Atemluft zu gelangen und sich in Wohnungen anzureichern. Es wurde ein Anstieg des Lungenkarzinomrisikos um 16% bei einer Erhöhung der Radonkonzentration um 100 Bq/m³ beschrieben (Darby S et al. 2005).

Laut Wichmann HE (2003) sind in Deutschland 1100 bis 2200 der Todesfälle durch ein Bronchialkarzinom auf Abgase durch Kraftfahrzeuge mit Dieselerbrennungsmotoren zurückzuführen. Diese Einschätzung basiert auf Forschungsergebnissen zur Korrelation zwischen der Lungentumor-Mortalität und der Exposition gegenüber pulmotropen Staubteilchen unter 2,5 µm, was den Kfz-Abgas-Partikeln entspricht (Pope CA et al. 2002).

Diese umwelt- und arbeitsbezogenen Risikofaktoren konnten in den letzten Jahren durch verbesserte Arbeitsschutzmaßnahmen wie der Tragepflicht von Schutzkleidung und Durchführung von Gebäudesanierungen deutlich reduziert werden (Popp W et al. 2003). Durch die Latenzzeit von meist mehreren Jahrzehnten und der Asbestverwendung im Baugewerbe bis in die zweite Hälfte des 20. Jahrhunderts, ist der Höhepunkt der durch Asbest verursachten Neoplasien noch ausstehend (Peto J et al. 1995).

1.1.2 Pathomorphologie und Prognose

Zu den Bronchialkarzinomen zählen mit einer Häufigkeit von ungefähr 15-20% das kleinzellige Bronchialkarzinom (engl. Small-cell lung carcinoma, SCLC) und das nicht-kleinzellige Bronchialkarzinom (engl. Non-small-cell lung carcinoma, NSCLC), welches etwa 80% aller Bronchialkarzinome ausmacht. Einen Überblick zu den einzelnen histologischen Typen des Bronchialkarzinoms gibt Tabelle 01 (Travis WD et al. 2004).

1. Plattenepithelkarzinom

Subtypen: papillär
 klarzellig
 kleinzellig
 basaloid

2. Kleinzelliges Karzinom

Kombiniertes kleinzelliges Karzinom

3. Adenokarzinom

Subtypen: gemischter Subtyp
 azinär
 papillär
 bronchioloalveolär
 solides Adenokarzinom mit Schleimbildung

4. Großzelliges Karzinom

Subtypen: großzellig neuroendokrin
 kombiniert großzellig neuroendokrin
 basaloid
 lymphoepithelial
 klarzellig
 großzellig mit rhabdoidem Phänotyp

5. Adenosquamöses Karzinom

6. Sarkomatoide Karzinome

7. Karzinoidtumoren

Subtypen: typisch
 atypisch

8. Bronchialdrüsenkarzinom vom Speicheldrüsentyp

Subtypen: mukoepidermoid
 adenoidzystisch
 epithelial-myoepithelial

Tab. 01 Histologische Klassifikation maligner Tumoren der Lunge (Travis WD et al. 2004)

Das kleinzellige Bronchialkarzinom gehört zu den neuroendokrinen Tumoren höchster Malignität. Es imponiert mit einer Tumorverdopplungszeit zwischen 10 und 50 Tagen, einer sehr hohen Zellproliferation sowie einer sehr frühen Tendenz zur Metastasierung.

Eine Übersicht zur Stadieneinteilung des SCLC gibt Tabelle 02. Das SCLC weist im Stadium „Limited Disease“ eine mittlere Überlebenszeit von etwa 15,5 Monaten auf und im Stadium „Extensive Disease“ ein medianes Überleben von ungefähr 7,2 Monaten. Die 5-Jahres-Überlebensrate liegt zwischen 3% und 6% (Osterlind K 1995).

Very Limited Disease (Stadium I nach TNM)

T1 oder T2 ohne ipsilaterale hiläre Lymphknotenmetastasen

Limited Disease (Stadium I bis III nach TNM)

Befall eines Hemithorax mit oder ohne ipsilateralen hilären Lymphknotenmetastasen;
ipsi- oder kontralateralen mediastinalen Lymphknotenmetastasen;
Skalenus- oder supraklavikulären Lymphknotenmetastasen;
Pleuraerguss (auch bei positiver Zytologie!)

Extensive Disease (Stadium IV nach TNM)

Alle Patienten, die nicht Limited Disease sind.

Tab. 02 Stadieneinteilung des kleinzelligen Lungenkarzinoms (Häußinger K und Kohlhäußl M 2005)

Die nicht-kleinzelligen Lungenkarzinome (NSCLC) umfassen alle Karzinome, die keine kleinzelligen Anteile besitzen und nicht den Karzinoidtumoren entsprechen (Travis WD et al. 2004). Diese sind das bronchiale Plattenepithelkarzinom, das Adenokarzinom und das großzellige Karzinom sowie deren Mischformen (Tab. 01). Entscheidend für die Prognose und Therapie ist die Ausbreitung des Tumors gemäß dem TNM-System sowie funktionelle Reserven des Patienten gemäß dem Karnofsky-Index (Drings P 2004).

Das Plattenepithelkarzinom tritt mit einer Häufigkeit von circa 30% unter den NSCLC auf und zeigt in den letzten Jahren eine leicht rückläufige Inzidenz. Es handelt sich bei dem Plattenepithelkarzinom um einen malignen epithelialen Tumor mit Verhornung, der in den basalen Zellschichten des Bronchialepithels entsteht. Bei hochdifferenzierten Karzinomen findet man Hornperlen und eine Vielzahl an Interzellularbrücken, während diese in weniger differenzierten Karzinomen in geringerem Ausmaß und nur fokal zu finden sind. Für die

Klassifikation des Plattenepithelkarzinoms sind diese Merkmale demnach entscheidend (Bittmann I und Müller-Höcker J 2006). 90% der Plattenepithelkarzinome befinden sich zentral in Lappen-, Segment- oder Subsegmentbronchien. Zudem haben sie die Eigenschaft, eine weißlich-graue, bröckelige Substanz zu bilden, die zu einer Einengung der Bronchien führen kann.

Als ätiologisch bedeutsam gilt vor allem eine dauerhaft bestehende Reizung der Bronchialschleimhaut. Dies erklärt auch, warum mehr als 90% der Plattenepithelkarzinome bei Rauchern entstehen und zudem ein enger Zusammenhang zur Asbestexposition besteht (Bittmann I und Müller-Höcker J 2006).

Als Adenokarzinom der Lunge bezeichnet man einen malignen epithelialen Tumor mit glandulärer Differenzierung sowie teilweise bestehender Muzinproduktion mit azinärem, papillärem, bronchioloalveolärem oder solidem Wachstum oder eine Mischung dieser Wachstumsarten (Bittmann I und Müller-Höcker J 2006).

In ca. 80% der resezierten Adenokarzinome findet man die histologischen Wachstumsmuster gemischt. Adenokarzinome der Lunge entstehen in 75% der Fälle peripher und sind daher bronchoskopisch kaum diagnostizierbar. Ursächlich für Adenokarzinome ist häufig Narbengewebe bzw. fibrotisches Gewebe der Lunge.

In vielen Ländern stellt das Adenokarzinom mit 40-50% bereits das häufigste Lungenkarzinom vor dem Plattenepithelkarzinom dar. Neben einer höheren Inzidenz bei Frauen, tritt es auch häufiger als andere Krebsarten ohne Raucheranamnese auf.

10% aller Bronchialkarzinome sind großzellige Karzinome, die weder squamös oder drüsig noch kleinzellig auftreten und histogenetisch als eine nicht einheitliche Gruppe imponieren.

Gemäß der Definition ist ein großzelliges Karzinom gering differenziert und weist Zellballen oder Trabekel großer polygonaler Zellen mit vesikulären Zellkernen auf. In der Regel sind diese Tumoren peripher lokalisiert und führen häufig zu einer Infiltration der viszerale Pleura und Brustwand (Bittmann I und Müller-Höcker J 2006).

Die 5-Jahres-Überlebensrate aller nicht-kleinzelligen Bronchialkarzinome (NSCLC) liegt im Durchschnitt bei ungefähr 15% (Breathnach OS et al. 2001).

Für die nicht-kleinzelligen Bronchialkarzinome ist die Prognose entscheidend von dem Tumorstadium gemäß der TNM-Klassifikation (Tab. 03), Stadiengruppierung der UICC (Tab. 04) sowie dem histologischen Grading zum Zeitpunkt der Diagnose abhängig.

Das Verhältnis zwischen Prognose und Stadium der Erkrankung ist in Tabelle 05 dargestellt (Albain KS et al. 1990; Mountain CF 1997).

T Primärtumor

Tx	Primärtumor kann nicht beurteilt werden
T0	Kein Anhalt für Primärtumor
Tis	Carcinoma in situ
T1	Tumor 3 cm oder weniger in größter Ausdehnung, umgeben von Lungengewebe oder viszeraler Pleura, kein bronchoskopischer Nachweis einer Infiltration proximal eines Lappenbronchus (Hauptbronchus frei)
T2	Tumor mit einem der folgenden Kennzeichen hinsichtlich Größe oder Ausbreitung: Tumor mehr als 3 cm in größter Ausdehnung Tumor mit Befall des Hauptbronchus, 2 cm oder weiter distal der Carina Tumor infiltriert viszerale Pleura assoziierte Atelektase oder obstruktive Entzündung bis zum Hilus, aber nicht der ganzen Lunge
T3	Tumor jeder Größe mit direkter Infiltration einer der folgenden Strukturen: Brustwand, Zwerchfell, mediastinale Pleura, parietales Perikard; oder Tumor im Hauptbronchus weniger als 2 cm distal der Carina, aber Carina selbst nicht befallen; oder Tumor mit Atelektase oder obstruktiver Entzündung der ganzen Lunge
T4	Tumor jeder Größe mit Infiltration wenigstens einer der folgenden Strukturen: Mediastinum, Herz, große Gefäße, Trachea, Ösophagus, Wirbelkörper, Carina; oder Tumor mit malignem Pleuraerguss

N Regionäre Lymphknoten

Nx	Regionäre Lymphknoten (LK) können nicht beurteilt werden
N0	Keine regionären Lymphknotenmetastasen
N1	Metastasen in ipsilateralen peribronchialen LK und/oder in ipsilateralen Hilus-LK (einschließlich einer direkten Ausbreitung des Primärtumors)
N2	Metastasen in ipsilateralen, mediastinalen und/oder subkranialen LK
N3	Metastasen in kontralateralen mediastinalen, kontralateralen Hilus-, ipsi- oder kontralateralen Skalenus- oder supraklavikulären LK

M Metastasen

MX	Das Vorliegen von Fernmetastasen kann nicht beurteilt werden
M0	Keine Fernmetastasen
M1	Fernmetastasen, einschließlich vom Primärtumor getrennter Tumorherde in einem anderen Lungenlappen (ipsilateral oder kontralateral)

Tab. 03 TNM-Klassifikation des Bronchialkarzinoms

1.1 DAS BRONCHIALKARZINOM

Okkultes Karzinom	Tx	N0	M0
Stadium 0	Tis	N0	M0
Stadium IA	T1	N0	M0
Stadium IB	T2	N0	M0
Stadium IIA	T1	N1	M0
Stadium IIB	T2	N1	M0
	T3	N0	M0
Stadium IIIA	T3	N1	M0
	T1	N2	M0
	T2	N2	M0
	T3	N2	M0
Stadium IIIB	jedes T	N3	M0
	T4	jedes N	M0
Stadium IV	jedes T	jedes N	M1

Tab.04 Stadiengruppierung des Bronchialkarzinoms der UICC (Mountain CF 1997; UICC 1997)

Stadium	5-Jahres-Überlebensrate in %
IA	97
IB	67
IIA	55
IIB	38-39
IIIA	23-25
IV	1

Tab. 05 Prognose des NSCLC in Abhängigkeit des Stadiums (Albain KS et al. 1990; Mountain CF 1997)

1.1.3 Diagnostik und Therapie

Mit Bezug auf die Zielstellung der Arbeit wird im Folgenden vor allem auf den Wert diagnostischer Verfahren sowie die Therapiekontrolle eingegangen.

1.1.3.1 Diagnostik

Trotz des stetigen technischen und medizinischen Fortschritts wird Lungenkrebs immer

noch bei mehr als 90% der Patienten durch krebsbezogene Bronchialsymptome (Hämoptysen, Husten, Dyspnoe) sowie begleitender unspezifischer B-Symptomatik (Gewichtsverlust, Abgeschlagenheit, Nachtschweiß) diagnostiziert (Scagliotti GV 2001; Buccheri G und Ferrigno D 2004). Bei den übrigen 10% der Patienten ergibt sich die Diagnose Lungenkrebs als Zufallsbefund.

Eine Zusammenstellung der Erstsymptome bei Lungenkrebs gibt Abbildung 02, wobei Hämoptysen als einziges typisches Symptom mit hohem Wahrscheinlichkeitswert für ein Bronchialkarzinom gelten (<http://www.sanktgeorg.de/bronchialkarzinom.html>).

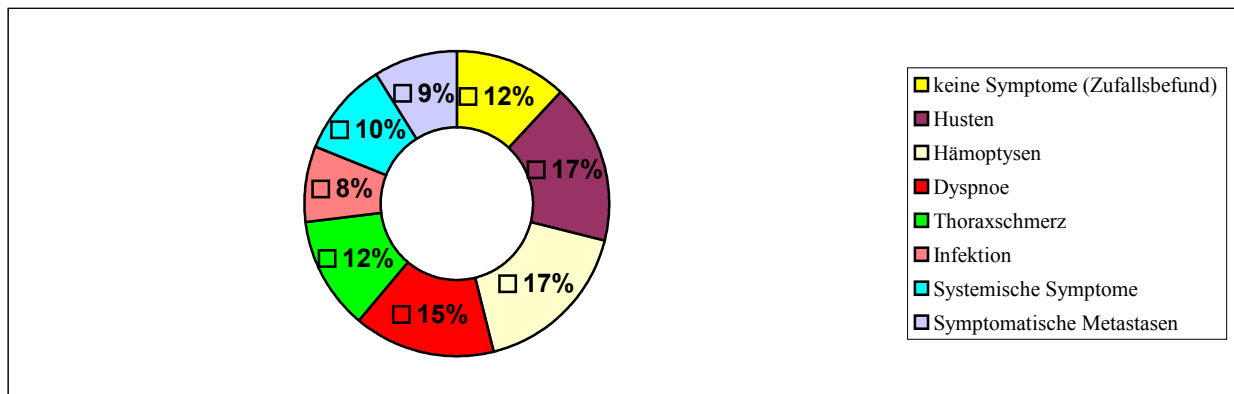


Abb. 02 Erstsymptome bei Lungenkrebs (Häußinger K und Kohlhäufel M 2005)

Laut Häußinger und Kohlhäufel M (2005) sind nur etwa 15-30% der Krebsfälle mit nicht-kleinzelligem Lungenkarzinom kurativ operabel, wohingegen über 90% in einem lokalem Stadium bei entsprechender Früherkennung heilbar wären.

Die Basisdiagnostik bei Verdacht auf Lungenkrebs umfasst die ausführliche Anamnese, klinische Untersuchung, ein Basislabor und eine Röntgen-Thoraxuntersuchung in 2 Ebenen. Des Weiteren ist neben einem kontrastmittelgestütztes Spiral-CT von Thorax, Oberbauch und Nebennieren insbesondere die Bronchoskopie mit der Zielsetzung der zytologischen oder histologischen Diagnosesicherung indiziert (Hauck RW et al. 2003).

Falls eine sichere Diagnose auch bronchoskopisch nicht erreicht wird, müssen weitere Verfahren wie die transthorakale-, transbronchiale- oder transösophageale Nadelbiopsie, Mediastinoskopie oder videoassistierte Thorakoskopie angewandt werden.

Im Anschluss erfolgt eine Stagingdiagnostik gemäß der TNM-Klassifikation zur Erfassung der intra- und extrathorakalen Tumorlokalisation und zur Beurteilung der Operabilität. Anmerkung: Diese diagnostischen Maßnahmen, in Anlehnung an aktuelle Leitlinien, wurden auch bei unseren Patienten im Klinikum St. Georg Leipzig, Abteilung für Thoraxchirurgie, angewandt.

Speziell in der Frühdiagnostik der Lungenkarzinome stehen neben der intensiven Forschung nach speziellen Tumormarkern auch Verfahren der Bronchoskopie im Focus der Wissenschaft, allerdings wurde bis heute keine routinetaugliche Untersuchung gefunden.

Die Weißlichtbronchoskopie stellt die konventionelle Untersuchungsmethode zur Erkennung maligner Läsionen dar. Laut Woolner LB (1983) ergab die Sensitivität dieses Verfahrens zur Erkennung von Dysplasien und CIS nur etwa 30%, die Spezifität 15%. Durch Verwendung hochauflösender Chipbronchoskope verbesserte sich die Sensitivität der Weißlichtbronchoskopie laut Sato M et al. (2001) jedoch auf etwa 85%.

Neben der Weißlichtbronchoskopie stellt die Autofluoreszenzbronchoskopie (ASB) ein neues Verfahren mit deutlich höherer Sensitivität bei der Früherkennung der in der Schleimhaut liegenden (prä-) malignen Läsionen dar. In der ASB wird blaues Licht der Wellenlänge 380 nm bis 450 nm als Stimulationslicht angewandt. Während normale Schleimhaut im Autofluoreszenzmodus grün imponiert, erscheinen (prä-) maligne Läsionen dunkler sowie rötlich-bräunlich oder bläulich. Dieses Verfahren ist im Moment Gegenstand vieler Studien hinsichtlich deren Eignung in Screeninguntersuchungen. So haben bereits Stringer MR et al. (2008) in einer Vergleichsstudie zwischen Weißlichtbronchoskopie und ASB an asymptomatischen starken Rauchern eine Sensitivität von 75% bei ASB im Gegensatz zu 0% Sensitivität bei Weißlichtbronchoskopie beschrieben. Durch ASB konnten im Rahmen dieser Studie bei über 16% der Raucher Metaplasien in der Bronchialschleimhaut nachgewiesen werden.

Trotz diverser Forschungsansätze hat sich jedoch bisher keine Untersuchung zur Frühdiagnostik der Bronchialkarzinome klinisch etabliert. Bei über zwei Drittel der Patienten ist zum Zeitpunkt der Diagnosestellung durch Tumorausbreitung oder entsprechende Multimorbidität keine Operation mehr möglich (Damhuis RAM und Schütte PR 1996).

1.1.3.2 Therapie und Verlaufskontrolle

Die Therapie und die Entscheidung über die Operabilität des Tumors richten sich nach dem in der Basisdiagnostik eruierten Tumorstadium sowie der Lungenfunktion des Patienten (<http://www.sanktgeorg.de/bronchialkarzinom.html>). Ziel jeder Operation ist die komplette Tumorentfernung im Sinne einer R0-Resektion, da nur in diesem Fall ein tatsächlich kurativer Ansatz gewährleistet ist.

Um den Rahmen dieser Arbeit nicht zu sprengen, wird im Folgenden nur ansatzweise auf die einzelnen Operationsverfahren eingegangen.

Die Lobektomie mit einem Sicherheitsabstand von 10 mm stellt das Operationsverfahren der

Wahl bei Bronchialkarzinomen dar, die peripher gelegen sind und sich auf einen Lungenlappen beschränken.

Bilobektomie und Pneumektomie werden bei lappenübergreifenden Tumoren und bei zentraler ostiumnaher Tumorlokalisation angewandt.

Die Keil- und Segmentresektion wird nur bei stark eingeschränkter Lungenfunktion, multimorbiden Patienten sowie peripherer Tumorumlage durchgeführt, da durch die mangelnde Radikalität eine erhöhte Rezidivgefahr besteht (Smythe WR 2003).

In der kurativen Operation ist zudem je nach Tumorstadium die selektive Entnahme der Sentinellymphknoten oder eine systemische Lymphadenektomie möglichst aller hilärer und mediastinaler Lymphknoten indiziert. Im Anschluss an die Operation wird bei allen Patienten eine Radiotherapie empfohlen. Zudem haben aktuelle Studien für eine adjuvante Chemotherapie im Anschluss an die Operation eine signifikante Verlängerung tumorfreien Überlebens gezeigt (Arriagada R et al. 2004).

Das Nachsorgeprogramm ist entsprechend den Leitlinien der Deutschen Gesellschaft für Thoraxchirurgie sowohl inhaltlich als auch zeitlich geregelt. Das Basisprogramm der Tumornachsorge umfasst eine Zwischenanamnese, körperliche Untersuchung, Basislaborprofil und eine Röntgenübersicht des Thorax in zwei Ebenen. Alle Untersuchungen werden bis zum dritten Jahr in dreimonatigen Abständen, im vierten und fünften Jahr in sechsmonatigen Abständen sowie anschließend einmal im Jahr durchgeführt. Zusätzlich erfolgt je nach Heilungstendenz der Bronchusanastomose eine Bronchoskopie in etwa sechs Wochen nach der Operation.

Einen spezifischen Marker für die Verlaufskontrolle gibt es jedoch bisher nicht.

1.2 Modifizierte Nukleoside und tRNA

Im folgenden Abschnitt soll näher auf eine weitere Gruppe von Tumormarkern, den renal eliminierten modifizierten Nukleosiden, eingegangen werden. Dabei wird neben der Biochemie der modifizierten und unmodifizierten Nukleoside in Anlehnung an deren Bedeutung und Vorkommen in der tRNA auch der Aufbau, Metabolismus und Katabolismus der tRNA erläutert.

1.2.1 Aufbau der tRNA und modifizierte Nukleoside

Bei der RNA handelt es sich um ein Makromolekül aus Nukleotiden, welches über 3'→5'-Phosphodiesterbindungen verbunden ist und Ribose als Zuckermolekül besitzt.

Das RNA-Molekül liegt in der Regel als Einzelstrang vor. In Lösung wird dieses Molekül durch intramolekulare Watson-Crick-Basenpaarungen zur 2-D-Stammschleifen-Struktur (stem-loop) umformiert. Diese Struktur wird als „Kleeblatt“-Struktur der tRNA (Abb. 03) bezeichnet, da sie diesem in ihrer Darstellung ähnelt (Lodish H et al. 2001). In dreidimensionaler Form imponiert die tRNA als L-Form, in der die beiden Armen jeweils von der Anticodonschleife und dem Akzeptorstamm gebildet werden (Abb. 03). Insgesamt besteht die tRNA aus nur 70 bis 80 Nukleotiden und stellt damit das kleinste RNA-Molekül dar.

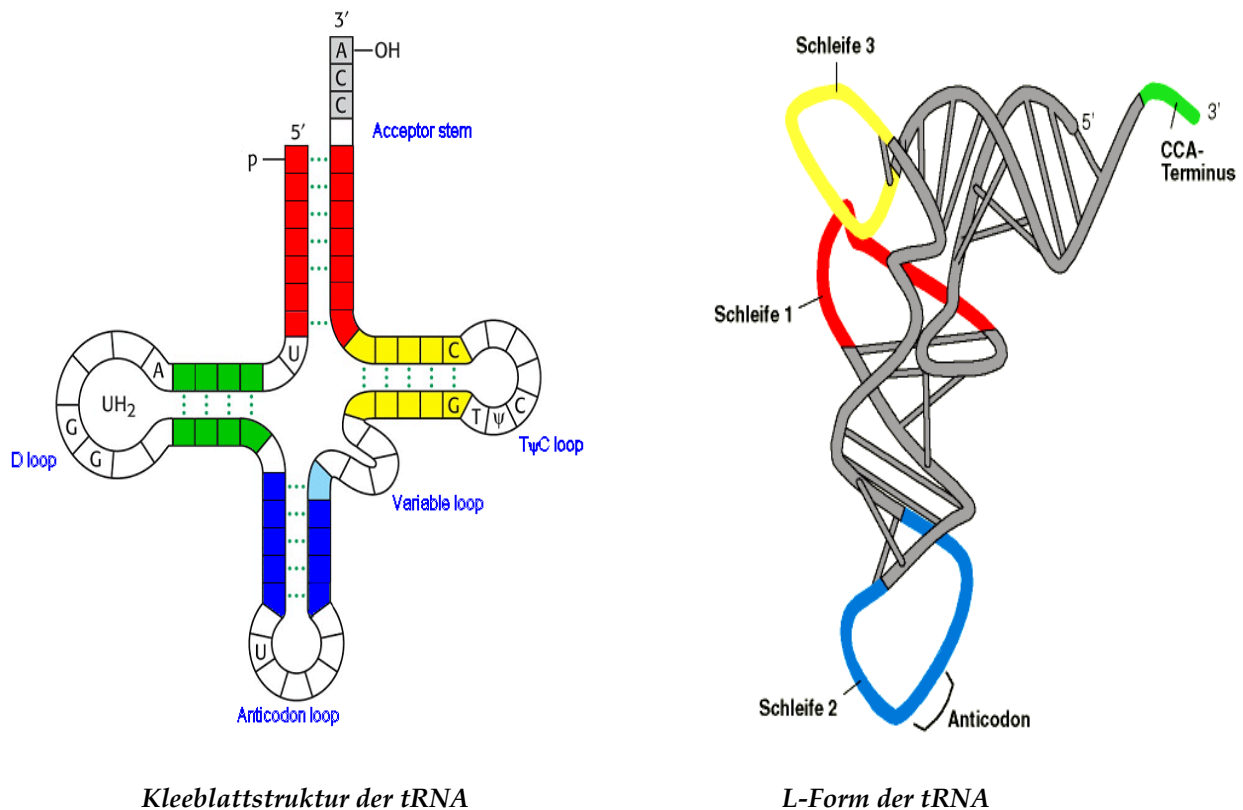


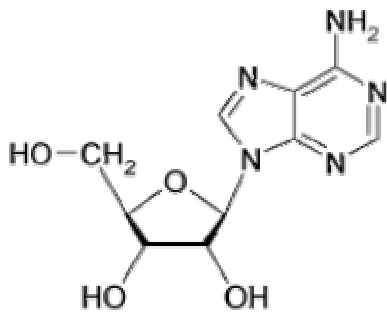
Abb. 03 Strukturen der tRNA

Nukleoside haben eine große Bedeutung für die tRNA, da sie hier in großer Menge enthalten sind. Zudem ist es heute unbestritten, dass modifizierte Nukleoside hauptsächlich aus dem Abbau der tRNA stammen. Als Nukleosid bezeichnet man die N-glykosidische Bindung zwischen einer Purin-/ Pyrimidinbase und einer Ribose bzw. Desoxyribose.

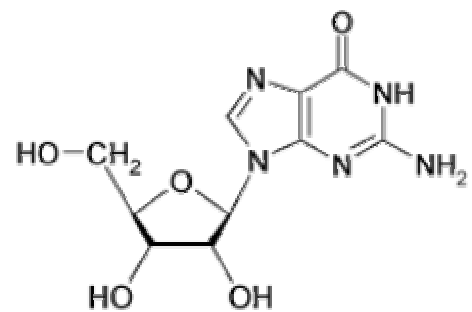
Die wichtigsten Nukleoside sind das vom Purin stammende Adenosin und Guanosin sowie das vom Pyrimidin hergeleitete Cytidin, Thymidin (in DNA) und Uridin (in RNA). Auf diesen Hauptnukleosiden basieren alle anderen modifizierten Nukleoside. Bisher wurden in etwa 100 modifizierte Nukleoside erforscht, welche eine starke Varianz hinsichtlich der Modifizierung verschiedener RNA-Arten, wie tRNA, mRNA, rRNA und snRNA aufweisen (Mc Closkey JA und

Crain PF 1998). Limbach PA et al. (1994) entdeckten 79 verschiedene Nukleoside in der tRNA, womit sie die am stärksten modifizierte RNA unter den RNA-Arten darstellt.

Die in unserer Studie bestimmten Nukleoside im Urin der Patienten und der Kontrollgruppe waren folgende 13 Nukleoside, deren Strukturen in den Abbildungen 04 bis 08 aufgeführt werden: Pseudouridin (PSI), Harnsäure (HS), Uridin (URI), 1-Methyladenosin (EMA), 5-Methylcytidin (FMC), 7-Methylguanosin(SMG), Inosin (INO), 5-Methyluridin (FMU), 1-Methylinosin (EMI), 1-Methylguanosin (EMG), 2-Methylguanosin (ZMG), Adenosin (ADE) sowie 6-Methyladenosin (SMA). Einen Überblick über die von uns verwendeten Nukleoside und deren Abkürzungen gibt auch eine separate Tabelle im Abkürzungsverzeichnis.

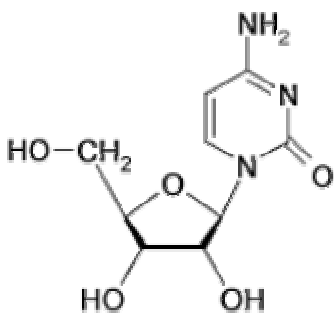


Adenosin

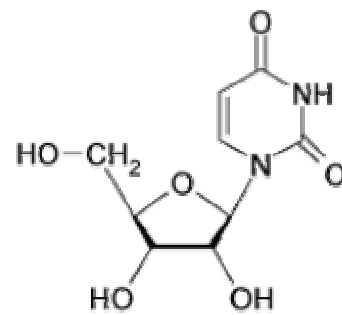


Guanosin

Abb. 04 Strukturformeln der Purinnukleoside Adenosin und Guanosin

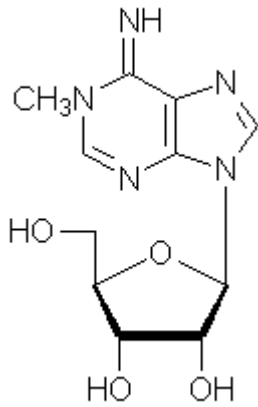


Cytidin

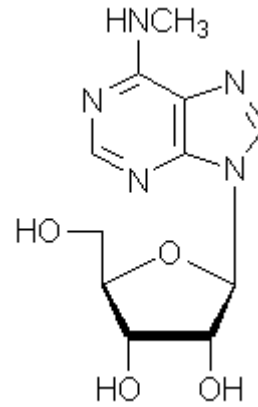


Uridin

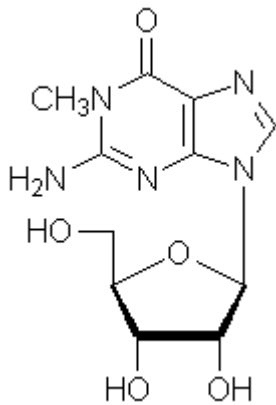
Abb. 05 Strukturformeln der Pyrimidinnukleoside Cytidin und Uridin



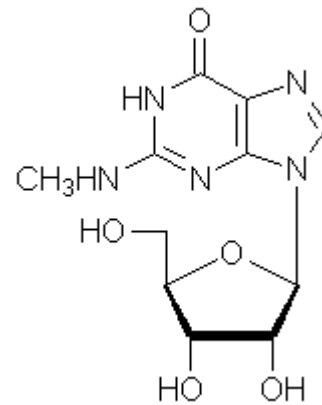
1-Methyladenosin



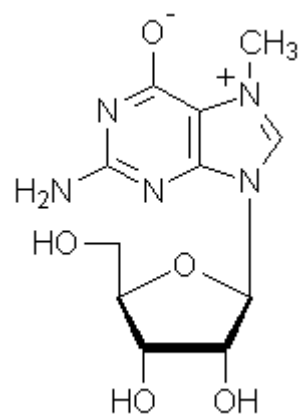
6-Methyladenosin



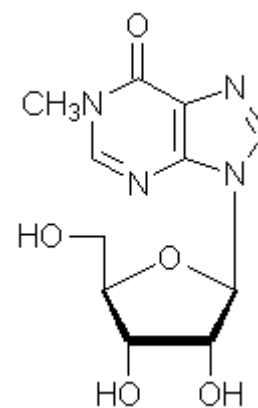
1-Methylguanosin



2-Methylguanosin

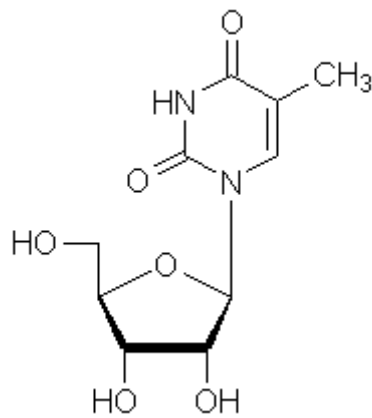


7-Methylguanosin

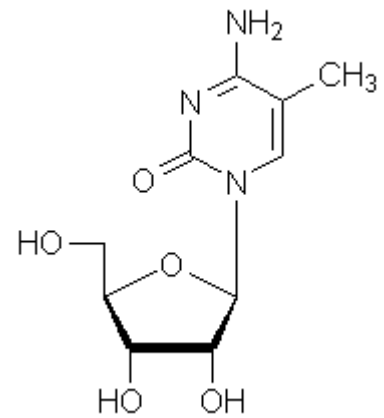


1-Methylinosin

Abb. 06 Strukturformeln modifizierter (methylierter) Nukleoside

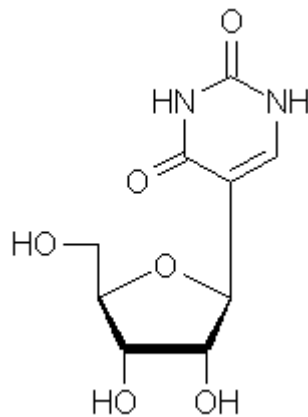


5-Methyluridin

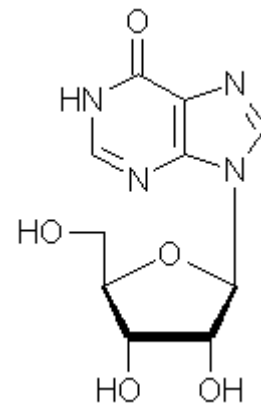


5-Methylcytidin

Abb. 06 Fortsetzung Strukturformeln modifizierter (methylierter) Nukleoside

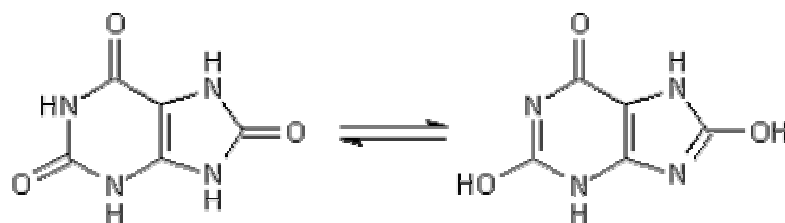


Pseudouridin



Inosin

Abb. 07 Strukturformeln von Pseudouridin und Inosin



Harnsäure

Abb. 08 Strukturformel des Purinabbauproduktes Harnsäure

Laut Melton DA et al. (1980) erfolgen die Modifikationen, vor allem die Methylierungen, hauptsächlich posttranskriptionell im Zellkern auf der prä-RNA an den Hauptnukleosiden

Adenosin, Guanosin, Uridin und Cytidin. Katalysiert werden diese Vorgänge durch hochspezifische Enzyme, die meist eine Ortsspezifität besitzen.

Ein Beispiel hierfür stellt die Umwandlung von Uridin in Pseudouridin dar, was durch modifizierende Enzyme an bestimmten Stellen auf der tRNA stattfindet (Singer CE et al. 1972; Green CJ et al. 1982). Die Erkennung der zu verändernden Nukleoside in der tRNA durch entsprechende Enzyme erfolgt auf verschiedene Art und Weise. Einerseits spielt die 3-D-Struktur der tRNA eine entscheidende Rolle, andererseits werden Enzyme von der jeweils benachbarten Nukleotidsequenz geleitet (Bjoerk GR et al. 1987).

Eine Reihe weiterer Modifikationen sind unter anderem Basenumlagerungen, Sättigungen von Doppelbindungen, Desaminierungen und Schwefelsubstitutionen.

Insgesamt wurden bis jetzt jedoch nur wenige Enzyme entschlüsselt und beschrieben, welche eine Modifikation der tRNA bewirken. Zudem erfolgte die Isolierung dieser modifizierenden Enzyme vorrangig aus Mäusen, Ratten oder *E. coli* und weniger aus menschlichen Zellen.

Bis heute stellte man insbesondere die hochspezifische RNA-Nukleosid-Methyltransferase als Enzym zur Modifikation der RNA heraus. Grosjean H und Goodenough-Lashua D (1998) konnten in humanen Zellen die RNA-(Cytosin-5)-Methyltransferase identifizieren, welche für die Übertragung einer Methylgruppe von S-Adenosylmethionin auf das C5-Atom des Cytosins an Position 48 oder 49 in der tRNA verantwortlich ist. Es lässt sich in diesem Fall eine deutliche Ortsspezifität erkennen. Bis 1998 stellte dieses Enzym das einzige modifizierende Enzym der tRNA dar, das man aus menschlichen Zellen gewinnen konnte. Man konstatierte, dass die tRNA-(Cytosin-5)-Methyltransferase in der Lage war, auch diverse andere RNAs wie beispielsweise von *E. coli* und Hefe, zu methylieren. Da Fragmente dieser Substrate, welche die genannte Methylierungsstelle besaßen, nicht methyliert wurden, schlussfolgerte man, dass die komplette 3-D-Form der tRNA eine Bedeutung bei der Substraterkennung einnimmt (Keith JM et al. 1980).

In Bezug auf die Aktivität der RNA besitzen modifizierte Nukleoside eine bedeutende Funktion, da sie entsprechend ihrer Lokalisation in der RNA Einfluss auf die Translation ausüben. Einerseits gewährleisten Modifikationen der Nukleoside in der Nähe der 3'-Region des Anticodons einen wirksameren und präziseren Translationsvorgang, andererseits eine Bewahrung des Leserasters.

Modifikationen von Nukleosiden, einerseits mit Einfluss auf die Verknüpfung der tRNA mit dem Codon der mRNA und andererseits auf die Präzision des Translationsvorganges, finden sich vermehrt an Position 34, dem Nukleotid an der 5'-Seite des Anticodons. Demgegenüber sollen

Modifikationen außerhalb des Anticodonbereiches die Stabilisierung der 3-D-Struktur der tRNA unterstützen (Bjoerk GR et al. 1987).

Welche Bedeutung die RNA-Modifikation auf die Zellfunktion hat, wird anhand einer Studie von Umeda N et al. (2005) deutlich. Diese beschrieb die Aufgabe und den Stellenwert von MTU1 (Mitochondriale tRNA-spezifische 2-Thiouridylase 1) in menschlichen HeLa-Zellen. Bei Inaktivierung des MTU1-Gens folgt ein Rückgang der mitochondrialen Aktivität mit verheerenden Folgen für die betroffene Zelle.

1.2.2 Funktion der tRNA in der Proteinbiosynthese

Zur Proteinbiosynthese gehört neben der Transkription auch die Translation. Im Zellkern kommt es zunächst zur Weitergabe des Informationsmaterials der Proteinstruktur von der DNA auf die mRNA. Mit Hilfe der tRNA erfolgt der Transport der Aminosäure aus dem Cytosol zur mRNA an den Ribosomen. Dort findet die Synthese des codierten Proteins statt. Gemäß der tRNA-Sequenz erfolgt die Beladung mit einer Aminosäure, wodurch die tRNA in gewisser Hinsicht eine Regulatorfunktion einnimmt. Während der Translation im Ribosom wird entsprechend dem genetischen Code jedem Basen-Triplett der mRNA eine entsprechende Aminosäure an die Peptidkette angeknüpft. Dabei lagert sich das Anticodon der tRNA an die mRNA an, wodurch die tRNA in der Position eines Adaptermoleküls fungiert. Die Hilfe zur Entschlüsselung des genetischen Codes ist in Abbildung 09 dargestellt.

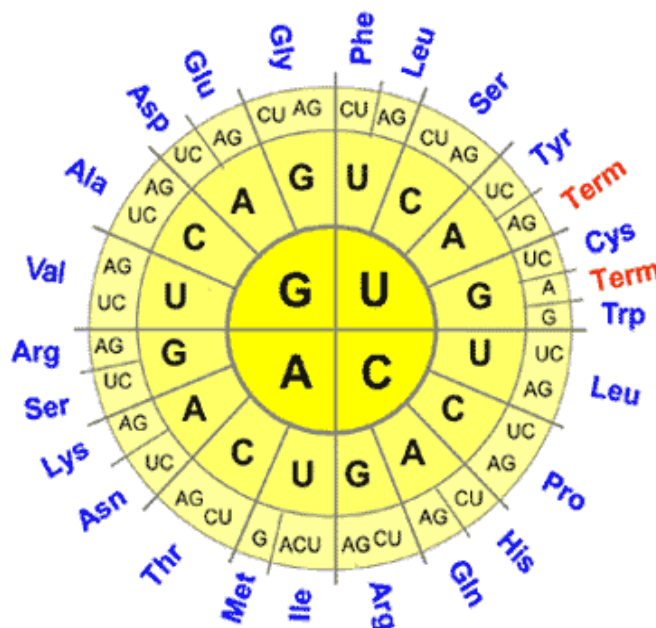


Abb. 09 Der genetische Code (Quelle: <http://www.medigenomix.de>)

1.2.3 Abbau der tRNA und Elimination der modifizierten Nukleoside

In der Zelle werden Nukleoside zur RNA-Synthese einerseits durch Neubildung (De-Novo-Synthese), andererseits durch den sogenannten „Salvage-Pathway“ im Sinne einer Wiederverwertung genutzt. Im Anschluss an die Proteinbiosynthese erfolgt der Abbau der beteiligten RNA-Arten.

Die unmodifizierten Nukleoside werden zunächst zu Basen abgebaut. Dabei entsteht Xanthin, was im weiteren Verlauf zu Harnsäure abgebaut wird, durch Abbau der Purinbasen Adenosin, Inosin, Xanthosin wie auch Guanosin. Harnsäure gelangt in den Blutkreislauf und wird später mit dem Harn ausgeschieden.

Aus der Pyrimidinbase Cytidin entsteht als erstes Uridin, welches nach entsprechender Abspaltung zu Uracil umgewandelt wird. Aus Uracil wird nach mehreren Schritten β -Alanin, das anschließend in Ammonium und Kohlendioxid gespalten wird. Nach Umbau von Ammonium zu Harnstoff erfolgt der Transport aus der Zelle in den Blutkreislauf und im Anschluss die Ausscheidung dessen über die Nieren (Lodish H et al. 2001), (Abb. 10).

Modifizierte Nukleoside können dagegen nicht mehr zur Neusynthese der Nukleinsäuren genutzt werden und werden mit Hilfe von speziellen Proteinen der Plasmamembran aus der Zelle in das Blut transportiert (Baldwin SA et al. 2004). Es finden sich hier, im Gegensatz zu unmodifizierten Nukleosiden, keine Kinasen, die zu einer Katalysierung der Phosphorylierung von modifizierten Nukleosiden führen, welche beim tRNA-Abbau freigesetzt werden.

Modifizierte Nukleoside werden rasch und quantitativ unverändert renal ausgeschieden, da sie keine Substrate von Nukleinsäuren sind (Weissmann et al. 1962). Dadurch kann die Konzentration modifizierter Nukleoside genutzt werden, um den RNA-Metabolismus im Körper abzuschätzen (Sander G et al. 1986b; Nakano K et al. 1991; Topp H et al. 1993), (Abb. 10).

Physiologische Unterschiede der Nukleosidkonzentrationen finden sich zwischen Erwachsenen und Kindern, wobei Kinder bis zum Alter von 16 Jahren einen deutlich höheren RNA-Umsatz aufweisen (Sander G et al. 1986a; Prankel BH et al. 1995).

Laut Itho K et al. (1993) besteht keine Differenz zwischen Alter und Geschlecht erwachsener Personen in Bezug auf die Höhe der eliminierten Nukleosidkonzentrationen. Prankel BH et al. (1995) jedoch fanden einen Zusammenhang zwischen der Nukleosidausscheidung und dem Alter und widerlegten damit die Aussagen von Itho K et al. (1993).

Die Relevanz modifizierter Nukleoside zur Beurteilung der metabolischen Aktivität des Körpers demonstrieren Erkenntnisse über erhöhte Nukleosidwerte bei Säuglingen/Kindern

(Sander G et al. 1986a), Schwangeren (Schöch G und Hoting E 1980) sowie Tumorpationen gegenüber gesunden Erwachsenen (Waalkes TP et al 1973, Gehrke CW und Kuo KC 1990a).

Bereits 1966 wurde eine gesteigerte Aktivität der tRNA-Methylase in Gewebe mit erhöhtem Metabolismus, wie es bei Infektionen oder Tumoren gegeben ist, beschrieben (Tsutsiu E et al. 1966).

Auch Borek E (1971) beobachtete eine erhöhte Konzentration modifizierter Nukleoside in der tRNA von kanzerogenem gegenüber dem gesunden Gewebe. Allerdings vermutet man, dass die erhöhte Nukleosidkonzentration eher auf eine gesteigerte tRNA-Rate im Tumorgewebe als auf den Zelltod zurückzuführen ist (Borek E et al. 1977).

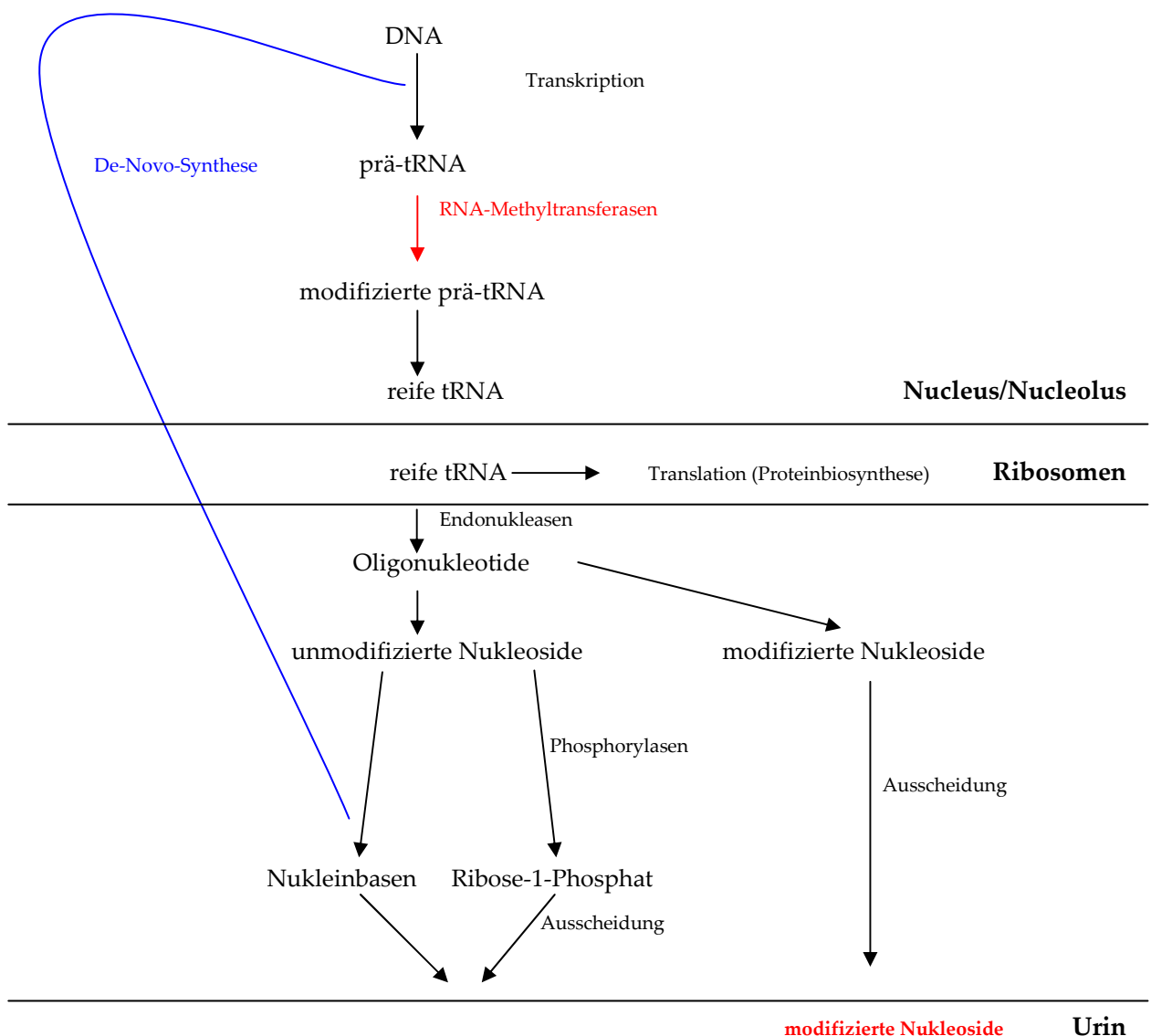


Abb. 10 Überblick über den tRNA-Metabolismus

1.3 Modifizierte Nukleoside als Tumormarker

Aufgrund der hohen Inzidenz und meist sehr ungünstigen Prognose des nicht-kleinzelligen Bronchialkarzinoms (NSCLC) ist es dringend erforderlich, die Methoden zur Früherkennung weiter zu verbessern. Der folgende Abschnitt gibt eine Beschreibung des Stellenwertes modifizierter Nukleoside als Tumormarker bei malignen Neoplasien anhand bisheriger Publikationen.

Im Mittelpunkt der Forschung stehen für Lungenkrebs, wie auch für andere Tumorarten, bei denen sich eine Diagnose in frühen Stadien schwierig gestaltet, sogenannte Tumormarker. Viele bereits in der klinischen Praxis genutzten Tumormarker haben keine suffiziente Spezifität und/oder Sensitivität und stehen nur bei einem geringen Teil der untersuchten Fälle mit der Erkrankung in Zusammenhang. Von einem idealen Tumormarker würde man allerdings erwarten, dass Sensitivität und Spezifität annähernd 100% erreichen. Leider konnte ein derartiger Tumormarker trotz diverser Forschungsansätze bisher nicht identifiziert werden.

Generell wird zwischen humoralen und zellulären Tumormarkern unterschieden. Sie stellen körpereigene Stoffe dar, deren Vorhandensein oder erhöhte Konzentration sich in bestimmten Körperflüssigkeiten wie beispielsweise dem Blut oder Urin (humoral), oder auch in oder auf gewissen Zellen (zellulär) nachweisen lässt. So lassen sich mit ihrer Hilfe neben diagnostischen auch prognostische Aussagen machen.

Zahlreiche Autoren wiesen bereits signifikant erhöhte Nukleosidkonzentrationen im Urin von Tumorpatienten nach (Borek E et al. 1977; Gehrke CW et al. 1979; Marvel CC 1994; Feng B et al. 2005; Seidel A et al. 2006).

Insbesondere zu erhöhter Nukleosidausscheidung bei Brustkrebs (Tormey DC et al. 1975; Ravdin PM und Clark GM 1992; Sascio AJ et al. 1996; Dieterle F et al. 2003), Leukämie (Heldman DA et al. 1983a; Heldmann DA et al. 1983b; Itoh K et al. 1992) und Kolorektalem Karzinom (Zheng YF et al. 2005; Feng B et al. 2005) wurden mehrere Studien publiziert, in welchen modifizierten Nukleosiden eine potentielle Rolle als Tumormarker zugeschrieben wurde.

Bisher konnte man mehr als 50 verschiedene modifizierte Nukleoside im humanen Urin nachweisen (Schram KH 1998), wobei Krebspatienten gegenüber gesunden Personen einen Teil davon in erhöhter Konzentration eliminieren.

Bedeutend ist der Nachweis, dass nach erfolgreicher Chemotherapie oder radikaler Resektion des Tumors eine Abnahme der erhöhten renalen Nukleosidkonzentrationen auf Normalwerte erfolgt (Salvatore F et al. 1983; Masuda M et al. 1993). In diesem Zusammenhang ist

die Beobachtung von Borek E (1984) zu nennen, welcher ein schnelleres Ansprechen der Nukleosidwerte auf eine erfolgreiche Therapie oder ein Rezidiv für wahrscheinlich hält, da die Halbwertszeit der Nukleoside deutlich kürzer ist als von Proteinen.

Holstege A et al. (1986) gelang für das Kolonkarzinom der Nachweis, dass anhand der Nukleosidmessungen eher Rückschlüsse auf einen potentiellen Tumor gezogen werden konnten als durch die Messung des Tumormarkers CEA. Bereits in frühen Tumorstadien wiesen die Ausscheidungsraten modifizierter Nukleoside vermehrt signifikant erhöhte Werte gegenüber der CEA-Messung auf.

Eine Erhöhung der renalen Nukleosidkonzentration wurde allerdings unter anderem auch bei Rheumatoider Arthritis (Tebib JG et al. 1997) sowie Infektionen des Respirations- und Urogenitaltraktes (Heldman DA et al. 1983b) nachgewiesen.

Des Weiteren erkannten Fischbein A et al. (1984) im Rahmen einer Studie mit Arbeitern, welche Asbest exponiert tätig sind, eine renal erhöhte Nukleosidausscheidung.

Es gibt eine Vielzahl an Studien, welche sich mit weiteren möglichen Markern des Lungentumors beschäftigt haben. In jüngster Zeit publizierten diesbezüglich folgende zwei Autoren bedeutsame Ergebnisse:

Oji Y et al. (2009) beobachteten bei der Mehrheit der Patienten mit NSCLC eine Überexpression des Wilms Tumor Gens mit einer erhöhten Konzentration von IgG-Antikörpern gegen das WT-1 (Wilms Tumor Gen) Protein. Laut Oji Y et al. (2009) ist eine Erhöhung des WT-1-Antikörper-Titers signifikant mit einem längeren krankheitsfreien Intervall bei NSCLC-Patienten in den Stadien I-III verbunden.

Lebanony D et al. (2009) entdeckten mit Hilfe einer Mikro-RNA-basierten qRT-PCR die Expression von hsa-miR-205 als einen genauen Mikro-RNA-Biomarker des bronchialen Plattenepithelkarzinoms verglichen mit Patienten, die an einem anderen Subtypen des nicht-kleinzelligen Bronchialkarzinoms erkrankt waren. Dies könnte zukünftig möglicherweise eine verbesserte Subklassifizierung unter den einzelnen Krebsarten der NSCLC erbringen und dementsprechend eine invasivere Diagnostik ersparen.

1.4 Zielstellung der Arbeit

Ziel der Arbeit war es, die Eignung modifizierter Nukleoside als Tumormarker in der Frühdiagnostik von nicht-kleinzelligen Bronchialkarzinomen (NSCLC) zu untersuchen und anschließend zu evaluieren.

Da das Bronchialkarzinom neben einer hohen Inzidenz zudem eine erhebliche Mortalität aufweist, hat die Entwicklung von routinetauglichen Screeningmethoden einen bedeutsamen Stellenwert, um zukünftig Lungenkrebs in früheren Stadien zu diagnostizieren und suffizient behandeln zu können.

Eine Alternative zur strahlenintensiven Bilddiagnostik in Form von CT oder Röntgen mit zusätzlichem Risiko für den Patienten bilden die bereits beschriebenen Tumormarker (siehe 1.3).

Neben der Prüfung modifizierter Nukleoside für die Frühdiagnostik des NSCLC soll der potentielle Nutzen zur Verlaufskontrolle sowie zur Abschätzung des Heilungserfolges während der Therapie des NSCLC bewertet werden.

2. METHODIK

2.1 Probenauswahl und Probensammlung

Unsere Probandengruppe setzte sich aus 65 Patienten im Alter zwischen 19 und 82 Jahren (Durchschnitt 65 Jahre) zusammen, die alle an einem Bronchialkarzinom erkrankt waren und aufgrund dessen chirurgisch behandelt wurden. Unter den Patienten waren 9 Frauen und 56 Männer.

34 Patienten waren an einem Plattenepithelkarzinom, 27 an einem Adenokarzinom der Lunge erkrankt und bei 4 Patienten wurde histologisch eine benigne Neoplasie im Bereich der Lunge festgestellt (Abb. 11). Durch die verschwindend geringe Anzahl benigner Neoplasien der Lunge sprechen wir insgesamt von nicht-kleinzelligen Bronchialkarzinomen (NSCLC).

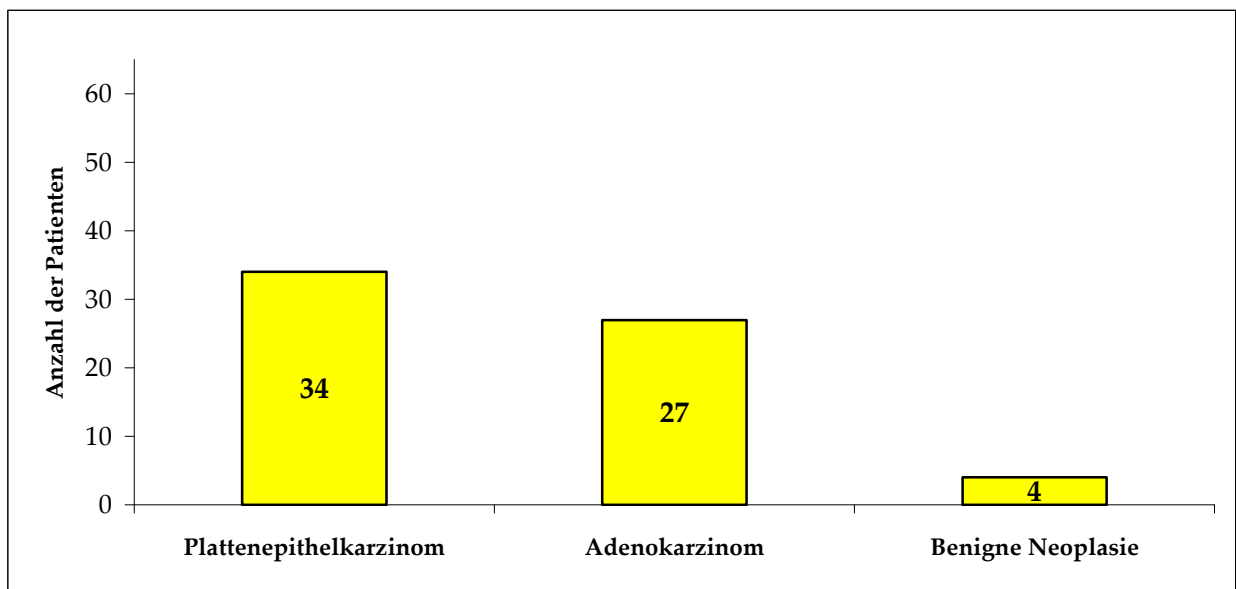


Abb. 11 Anteil der einzelnen Lungentumoren unter unseren Patienten

Die Patienten erhielten entweder eine Lobektomie (n=42), eine Bilobektomie (n=2), eine Pneumektomie (n=9) oder eine Keil- bzw. Segmentresektion (n=12). Patienten mit Keilresektion

und Patienten mit Segmentresektion fassten wir aufgrund des gleichartigen Umfanges der Operation zu einer Gruppe zusammen.

Die Anzahl der einzelnen Operationsverfahren ist in Abbildung 12 dargestellt.

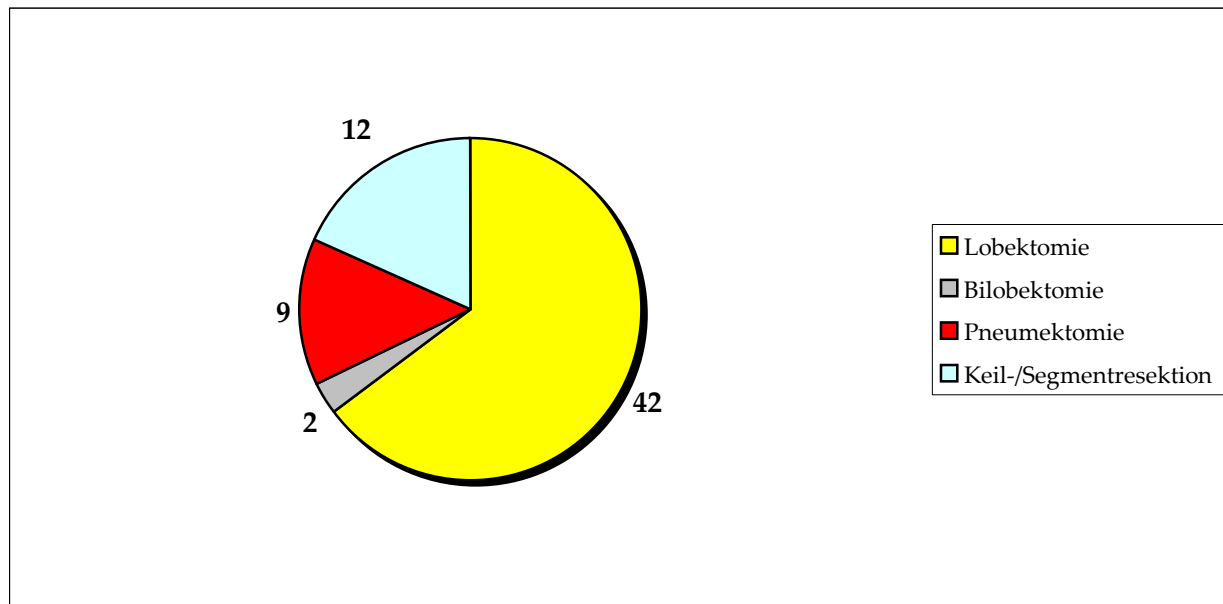


Abb. 12 Anteil der einzelnen Operationsverfahren zur Resektion des Bronchialkarzinoms

Um die modifizierten Nukleoside der Probanden zu bestimmen, wurden Proben aus dem Morgen-Urin verwendet. Die Urinproben der Probanden wurden von der Abteilung für Thoraxchirurgie des Klinikums St. Georg in Leipzig, zunächst während der präoperativen Diagnostik und anschließend zu festgelegten Zeitpunkten postoperativ entnommen und uns übergeben. Die postoperativen Proben wurden frühestens am ersten Tag bis spätestens am 535. Tag nach der Operation gesammelt.

Eine exakte Einhaltung bestimmter Zeitpunkte war durch frühzeitige Todesfälle oder compliancebedingt nicht möglich. Um die postoperativen Zeiträume übersichtlich zusammenzufassen, entschieden wir uns für eine Einteilung in 14 Klassen (Tab. 06). Insgesamt erhielten wir 687 Urinproben zur Analyse. Gesammelt wurden die Proben im Zeitraum von September 2001 bis November 2003.

Unsere Kontrollgruppe bestand aus 41 klinisch gesunden Blutspendern, Sportstudenten sowie Studenten aus dem medizinisch-pharmazeutischen Bereich und wies ein Durchschnittsalter von 27 Jahren auf. Tabelle 07 enthält eine Übersicht der Patientengruppe und der Kontrollgruppe.

Klassen	Zeit in Tagen (postop)	Fallzahl (insgesamt 687 Fälle)
0	Präoperativ	63
1	1-2	39
2	3-4	35
3	5-6	35
4	7-8	56
5	9-10	54
6	11-12	34
7	13-14	45
8	15-16	44
9	17-18	28
10	19-30	39
11	31-90	73
12	91-180	43
13	181-270	37
14	> 270	62

Tab. 06 Klasseneinteilung der prä- und postoperativen Probeentnahmen

Patientengruppe	
Plattenepithelkarzinom	34
Adenokarzinom	27
Benigne Neoplasie	4
Lungentumoren insgesamt	65
Kontrollgruppe	
Sportler	19
Studenten	12
Blutspender	10
Kontrollgruppe insgesamt	41

Tab. 07 Übersicht über die Patienten- und die Kontrollgruppe

Als Behälter für die gesammelten Urinproben wurden Polyethylenflaschen mit Schraubverschluss verwendet. Kurz nach ihrer Abfüllung (1/2 bis max. 3 h) wurden sie sterilfiltriert und anschließend bei -20 °C gelagert.

2.2 Die Hochdruckflüssigkeitschromatographie

Mit der Hochdruckflüssigkeitschromatographie (RP-HPLC – Reversed Phase High Pressure Liquid Chromatography), mit welcher Nukleoside nachweisbar sind, wird Trennschärfe, Empfindlichkeit, einfache Quantifizierung und Automatisierung in einer methodischen Anwendung verbunden. Zudem bietet sie die Möglichkeit, viele Substanzen gleichzeitig nachzuweisen.

Zunächst aber muss der Nativurin präpariert werden und eine Vorfraktionierung durch SPE-Säulen durchlaufen.

Zur verwendeten HPLC-Anlage gehören folgende Geräte:

- GYNKOTEK Pumpe M 480 Gradient
- Degasser Liliput (für drei Lösungsmittel)
- Probenaufgäbeventil VA 585
- Säulenthmostat STH 585
- GYNKOSOFT Diodenarray-Detektor UVD 320 S
- GYNKOSOFT Diodenarray-Auswertung DA-A
- GYNKOSOFT PCD-Integrations-Software
- SIEMENS-NIXDORF PCD-4H/338/340 MB und
- SNI Monitor 15 MCM 1502

Zur RP-HPLC nutzten wir eine Haupt- (4,6 x 240 mm) und eine Vorsäule (4,6 x 20 mm) der Firma SUPELCO. Um die Proben einzuengen, verwendeten wir zusätzlich einen Rotationsverdampfer VV Micro der Firma HEIDOLPH.

Die Durchführung einiger Voruntersuchungen fand anhand der Methodik nach Gehrke CW und Kuo KC (1989), Gehrke CW und Kuo KC (1990b) sowie der Modifikation nach Seidel A et al. (2006) statt. Diese beinhalteten das Erstellen eines Elutionsprogrammes, Festlegung der Referenzwerte, die Kalibrierung der Messgeräte sowie die Prüfung der Nukleosidabtrennung aus dem Urin über unterschiedliche Festphasen-Trennsäulen.

Folgende Elutionspuffer wurden eingesetzt.

- Puffer A: 0,01m NH₄H₂PO₄, 2,5% Methanol,
- Puffer B: 0,01m NH₄H₂PO₄, 20% Methanol,
- Puffer C: 0,01m NH₄H₂PO₄, 35% Acetonitril und

- Puffer D: 70% Methanol, 30% Wasser.

Durch das angegebene Eluentenprogramm ist es möglich, die einzelnen Verbindungen ohne erhebliche Überlagerungen von der SUPELCO-Säule zu eluieren (Eluentenprogramm siehe Tab. 08).

Neben selbst hergestellten Standardgemischen nutzten wir zur Eichung ein fertiges Nukleosidgemisch von SUPELCO. Nach Zusammenstellung von Verdünnungsreihen wurden von jeder Lösung 20 µl auf die Säulen aufgetragen und mit dem entsprechenden Eluentenprogramm eluiert. Durch die GYNKOTEK-Software erfolgte die direkte Auswertung der Kalibrierungskurven, welche anschließend in der Spektrenbibliothek gespeichert wurden.

t (min)	Puffer A	Puffer B	Puffer C	Puffer D
0	100	0	0	0
7,2	100	0	0	0
12,0	90	10	0	0
15,0	75	25	0	0
19,2	40	60	0	0
27,0	0	100	0	0
35,0	0	100	0	0
39,0	0	60	40	0
40,0	0	0	100	0
55,0	0	0	100	0
55,1	0	0	0	100
70,0	0	0	0	100
70,1	100	0	0	0
86,0	100	0	0	0

Tab. 08 HPLC-Elutionsgradient zur Abtrennung von Ribonukleosiden

2.3 Analyse modifizierter Nukleoside mit Hilfe der HPLC

Bevor die Proben bestimmt wurden, wurden sie bei Zimmertemperatur aufgetaut. Durch den Vorlauf über eine SPE-Trennsäule (Octadecylsilicagel) wurden die keimfreien Urinproben aufbereitet.

Um die einzelnen Nukleoside zu differenzieren und quantitativ zu bestimmen, fand folgendes Verfahren Anwendung (festgeschrieben in einer institutsinternen SOP):

- Konditionierung der BAKER-Octadecylsilicagel – Trennsäulen mit 1 ml Acetonitril, 5 x 1 ml Methanol, 3 x 1 ml Wasser,
- Wechseln der Vorlage,
- Probenzugabe von 0,5 ml Testgemisch bzw. Urin,
- Elution mit 2 ml Methanol, 1 ml Acetonitril,
- Abdampfen des Lösungsmittelgemisches im Rotationsverdampfer,
- Aufnahme des Rückstandes mit 0,5 ml bidestilliertem Wasser,
- Filtrieren durch 0,45 µm Filter (SARTORIUS) und
- Injektion von 20 µl in die HPLC-Anlage und Analyse.

Zur Identifikation der Nukleoside aus dem Urin wurde ein Vergleich der Retentionszeiten und UV-Spektren anhand authentischer Nukleoside (SIGMA) angewandt.

2.4 Statistische Auswertung

Die Identifizierung und Quantifizierung der Nukleoside erfolgte anhand der Chromatogramme mit Hilfe der oben genannten Software.

Zur exakten Vergleichbarkeit der Konzentration eliminierten Nukleoside (nmol/ml Urinfiltrat) zwischen den einzelnen Probanden bestimmten wir zudem den Kreatininwert (µmol/ml) und bezogen die Nukleosidkonzentrationen auf diesen Wert.

Dies diente zur Reduzierung der Fehlerquellen, welche durch unterschiedliche Muskelmassen, differierende Mengen aufgenommener Flüssigkeiten oder unterschiedliche Nierenleistungen auftreten können.

Die Konzentration an eliminierten modifizierten Nukleosiden wird daher in nmol Nukleosid/ µmol Kreatinin angegeben.

Zu Beginn der weiteren statistischen Auswertung prüften wir die Normalverteilung der Ergebnisse anhand des Tests nach Kolmogorow-Smirnow (K-S-Test). Bei Normalverteilung der Ergebnisse wurde anschließend zur Prüfung bestehender Unterschiede der U-Test nach Wilcoxon und Mann-Whitney mit Bestimmung der Signifikanzen (p-Werte) durchgeführt (Barthel D et al. 1995). Zudem wurden Mittelwerte, Medianwerte, Standardfehler und –abweichungen ermittelt.

Als signifikant erhöht galten Werte der Nukleosidkonzentration bei Lungentumorpatienten,

wenn sie den Wert von Mittelwert plus Standardfehler des jeweiligen Nukleosids der Kontrollgruppe überschritten (Cut-off-Level). Die Berechnung der Referenzintervalle aller Nukleoside erfolgte separat.

Im Anschluss an die deskriptive Auswertung wurden die Daten einer analytischen Bewertung (logistische Regression) unterzogen.

3. ERGEBNISSE

3.1 Deskriptive Auswertung

Die Urin-Proben der Patienten wurden in der Zeit von September 2001 bis November 2003 gesammelt und analysiert. Von den insgesamt 65 Lungentumorpatienten, die alle aufgrund ihres Tumorleidens chirurgisch behandelt wurden, wurden die Proben zu einem Zeitpunkt kurz vor der Operation und zu definierten Zeitpunkten postoperativ abgenommen.

Die aus den Proben bestimmten Daten sowie die ermittelten absoluten Konzentrationen und die auf die Kreatininkonzentration bezogenen Werte der Kontrollgruppe sind in den Tabellen 37 und 38 des Anhangs zusammengefasst.

Die aus den Krankenakten erfassten Daten der Patienten mit Bronchialkarzinom sind in Tabelle 39 (s. Anhang) enthalten. Auf eine Auflistung aller Nukleosidkonzentrationen der Patienten zu den unterschiedlichen Zeitpunkten sowie deren Bezug auf Kreatinin und unsere umfassenden statistischen Analysen im Anhang musste aufgrund des zu großen Umfangs verzichtet werden.

In geringen Mengen scheidet jeder gesunde Mensch modifizierte Nukleoside renal aus, Patienten mit neoplastischem Gewebe jedoch in erhöhter Konzentration. Die Festlegung der Referenzbereiche richtet sich nach der jeweilig angewandten Methodik.

Wir bestimmten die Normwerte der renal eliminierten modifizierten Nukleoside aus Mittelwert plus Standardfehler der gemessenen Kontrollwerte (n=41), (Tab. 09), (Tab. 10).

Eine Liste mit Abkürzungen der von uns verwendeten Nukleoside befindet sich im Abkürzungsverzeichnis im Anfangsteil der Arbeit.

3. ERGEBNISSE

Nukleosid	MW	SE	Median- wert	SD	Relative SD	25%- Perzentile	75%- Perzentile	n
PSI/Crea	49,71	5,31	41,81	33,99	0,68	25,15	67,77	41
HS/Crea	327,98	79,82	83,07	511,07	1,56	30,69	336,76	41
URI/Crea	6,12	1,71	3,16	10,92	1,78	1,40	5,29	41
EMA/Crea	6,54	1,12	4,21	6,56	1,00	1,82	8,74	34
FMC/Crea	18,78	3,13	15,83	17,43	0,93	1,77	28,98	31
SMG/Crea	1,88	0,30	1,21	1,80	0,96	0,71	2,33	37
INO/Crea	7,25	1,66	2,31	10,62	1,47	1,19	9,86	41
FMU/Crea	4,35	0,92	2,83	4,69	1,08	1,27	5,61	26
EMI/Crea	5,22	0,70	4,51	4,50	0,86	1,95	7,21	41
EMG/Crea	1,52	0,22	1,30	1,30	0,85	0,49	2,09	35
ZMG/Crea	2,20	0,33	1,46	2,11	0,96	0,65	3,10	40
ADE/Crea	6,45	1,17	4,57	7,11	1,10	2,03	9,18	37
SMA/Crea	0,92	0,25	0,46	1,42	1,55	0,22	1,13	32

Tab. 09 Renal ausgeschiedene Nukleoside und HS (in nmol/ μ mol Kreatinin) der Kontrollgruppe (n=41)

Nukleosid	Mittelwert	SE (\pm)	Relative SD	Normwert
PSI/Crea	49,71	5,31	0,68	55,02
HS/Crea	327,98	79,82	1,56	407,79
URI/Crea	6,12	1,71	1,78	7,83
EMA/Crea	6,54	1,12	1,00	7,66
FMC/Crea	18,78	3,13	0,93	21,91
SMG/Crea	1,88	0,30	0,96	2,18
INO/Crea	7,25	1,66	1,47	8,90
FMU/Crea	4,35	0,92	1,08	5,26
EMI/Crea	5,22	0,70	0,86	5,93
EMG/Crea	1,52	0,22	0,85	1,74
ZMG/Crea	2,20	0,33	0,96	2,54
ADE/Crea	6,45	1,17	1,10	7,62
SMA/Crea	0,92	0,25	1,55	1,17

Tab. 10 Normwerte (in nmol/ μ mol Kreatinin; n=41) renal ausgeschiedener Nukleoside und HS, die bei Lungentumorpatienten (n=65) erhöht waren

Im Folgenden sind die Tabellen mit den zum präoperativen Zeitpunkt (Klasse 0) bestimmten Werten der Patienten mit NSCLC aufgeführt. Durch die Untersuchung dieser Werte sollten Aussagen über die Relevanz der modifizierten Nukleoside in der Frühdiagnostik des nicht-kleinzelligen Bronchialkarzinoms (NSCLC) getroffen werden.

Nukleosid	MW	SE	Median-wert	SD	Rel. SD	25%- Perzentile	75%- Perzentile	p-Wert	n
PSI/Crea	300,45	27,78	247,50	220,50	0,73	152,88	411,79	<0,001	63
HS/Crea	922,58	111,52	599,07	863,85	0,94	227,47	1558,76	<0,001	60
URI/Crea	22,32	3,86	11,84	30,36	1,36	5,43	22,74	<0,001	62
EMA/Crea	25,21	4,13	16,13	31,20	1,24	3,84	33,30	<0,001	57
FMC/Crea	42,61	12,54	16,07	83,19	1,95	2,34	45,91	n. s.	44
SMG/Crea	39,57	8,96	17,15	65,84	1,66	6,83	35,14	<0,001	54
INO/Crea	41,60	8,91	17,93	64,22	1,54	5,19	52,66	<0,001	52
FMU/Crea	30,92	4,66	17,38	36,13	1,17	7,85	39,66	<0,001	60
EMI/Crea	53,51	12,84	31,53	98,63	1,84	20,51	61,00	<0,001	59
EMG/Crea	55,19	10,85	28,96	76,74	1,39	15,46	58,65	<0,001	50
ZMG/Crea	57,59	14,67	28,96	102,71	1,78	14,86	41,76	<0,001	49
ADE/Crea	33,83	7,99	15,45	62,88	1,86	9,47	31,61	<0,001	62
SMA/Crea	36,37	15,88	9,43	113,40	3,12	2,86	23,02	<0,001	51

Tab. 11 Renal ausgeschiedene Nukleoside und HS (in nmol/ μ mol Kreatinin) aller Patienten (n=65) zum präoperativen Zeitpunkt (Klasse 0)

Zunächst wurden die präoperativen Werte aller Patienten (Klasse 0) bestimmt (Tab. 11) und deren Konzentrationsverhältnis gegenüber der Kontrolle graphisch dargestellt (Abb. 13). Im nächsten Schritt betrachteten wir getrennt die präoperativen Werte der Patienten, die innerhalb von fünf Jahren nach Operation verstorben waren (Tab. 12) und der Patienten, die fünf Jahre postoperativ noch am Leben waren (Tab. 13).

Die aus den präoperativen Proben ermittelten Nukleoside (Klasse 0) aller Patienten prüften wir als erstes auf Signifikanz gegenüber der Kontrollgruppe. Dabei zeigten sich signifikant erhöhte Konzentrationen für PSI um 500%, HS um mehr als 180%, URI um 267%, EMA um fast 260%, SMG um circa 2000%, INO um etwa 478%, FMU um 620%, EMI um 930%, EMG um etwa 3570%, ZMG um 2520%, ADE um 430% und SMA um fast 4000%. FMC zeigte sich als einziges Nukleosid bereits in dieser Bestimmung nicht signifikant und blieb daher in weiteren Untersuchungen unserer Patientendaten unberücksichtigt (Tab. 11).

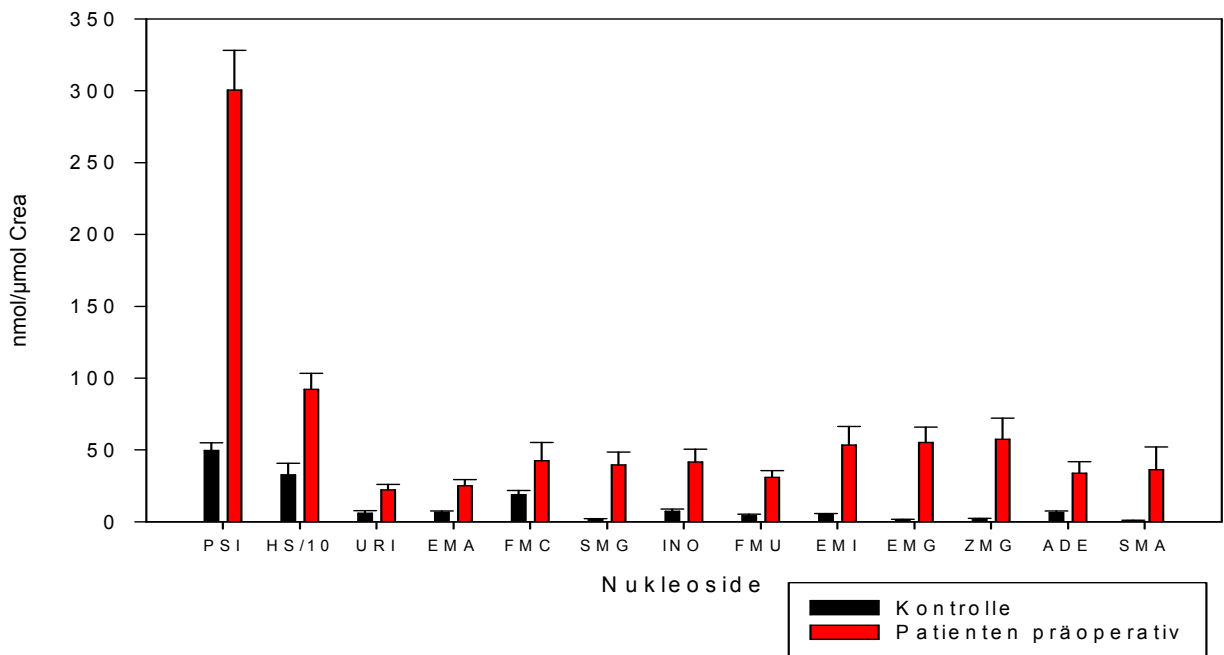


Abb. 13 Renal ausgeschiedene Nukleoside und HS (in nmol/μmol Kreatinin) aller Patienten (n=65) zum präoperativen Zeitpunkt (Klasse 0) im Vergleich zur Kontrolle (n=41)

Die Selektion der Patientengruppe (n=65) hinsichtlich Patienten, die innerhalb von fünf Jahren nach der Operation verstorben waren und Patienten, die fünf Jahre postoperativ noch am Leben waren, ergab eine Überlebensquote von 43% (n=28). Eine Überlebensverteilung der Patienten für einen Zeitraum von fünf Jahren nach der Operation gibt Abbildung 14.

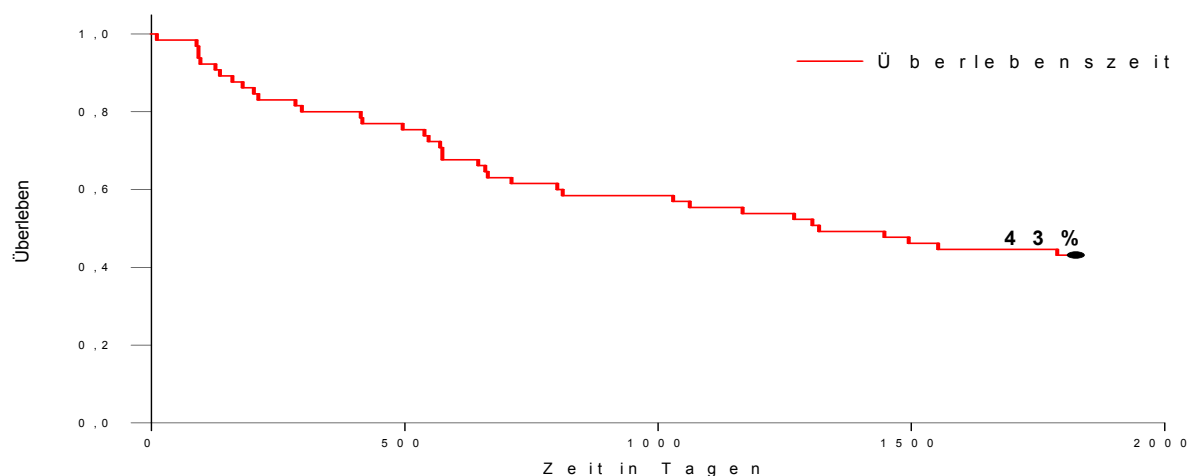


Abb. 14 Überlebensanalyse der Lungentumorpatienten (Anzahl überlebender Patienten dargestellt in %)

Anschließend testeten wir die präoperativen Proben (Klasse 0) sowohl der verstorbenen Patienten (n=37) als auch der überlebenden Patienten (n=28) auf Signifikanz gegenüber der Kontrollgruppe (n=41).

Es zeigten sich dabei deutlich erhöhte Werte bei verstorbenen Patienten gegenüber der Kontrolle bei den Konzentrationen von: PSI um 460%, HS um 190%, URI um etwa 270%, EMA um circa 330%, SMG um 2060%, INO um 410%, FMU um 530%, EMI um 690%, EMG um etwa 3300%, ZMG um fast 3540%, ADE um etwa 510% und SMA um 2900% (Tab. 12; Abb. 15; Abb. 16).

Nukleosid	MW	SE	Median-wert	SD	Rel. SD	25%- Perzentile	75%- Perzentile	p- Wert	n
PSI/Crea	280,32	34,39	239,86	200,50	0,72	113,17	389,82	<0,001	34
HS/Crea	956,39	163,14	523,55	937,18	0,98	207,82	1734,29	<0,001	33
URI/Crea	22,08	5,57	9,90	32,49	1,47	4,80	22,13	<0,001	34
EMA/Crea	26,04	6,44	18,79	35,87	1,38	3,29	33,07	0,003	31
SMG/Crea	40,98	15,65	14,58	82,80	2,02	4,47	32,32	<0,001	28
INO/Crea	37,40	8,79	17,50	45,70	1,22	4,37	67,27	<0,001	27
FMU/Crea	26,89	5,43	14,60	30,72	1,14	7,04	36,72	<0,001	32
EMI/Crea	41,04	5,82	29,28	33,95	0,83	18,98	66,64	<0,001	34
EMG/Crea	50,85	15,44	28,78	80,25	1,58	12,55	45,27	<0,001	17
ZMG/Crea	79,75	24,78	30,48	131,13	1,64	21,47	54,69	<0,001	28
ADE/Crea	38,53	13,62	15,97	79,44	2,06	9,03	31,07	<0,001	34
SMA/Crea	26,73	12,46	9,43	64,72	2,42	2,81	22,50	<0,001	27

Tab. 12 Renal ausgeschiedene Nukleoside und HS (in nmol/ μ mol Kreatinin) der verstorbenen Patienten (n=37) zum präoperativen Zeitpunkt (Klasse 0)

Bei den Patienten, die fünf Jahre nach der Lungentumorresektion noch am Leben waren (n=28), wiesen folgende Nukleoside präoperativ (Klasse 0) erhöhte Konzentrationen gegenüber der Kontrollgruppe auf: PSI um fast 550%, HS um fast 170%, URI um fast 280%, EMA um etwa 270%, SMG um 1900%, INO um fast 540%, FMU um 720%, EMI um über 1250%, EMG um etwa 3900%, ZMG um 1170%, ADE um 340% und SMA um 5140% (Tab. 13; Abb. 15; Abb. 16).

Einen Vergleich der veränderten Nukleosidausscheidungen zum präoperativen Zeitpunkt (Klasse 0) zwischen verstorbenen Patienten, überlebenden Patienten und der Kontrollgruppe zeigen die Abbildungen 15 und 16 sowohl für die absoluten Nukleosidmittelwerte als auch für die prozentualen Nukleosidkonzentrationen (Tab. 40, s. Anhang).

Nukleosid	MW	SE	Median-wert	SD	Rel. SD	25%-Perzentile	75%-Perzentile	p-Wert	n
PSI/Crea	324,05	45,19	289,03	243,33	0,75	172,50	419,55	<0,001	29
HS/Crea	881,25	150,21	632,46	780,51	0,89	344,12	1325,13	<0,001	27
URI/Crea	22,61	5,32	13,88	28,15	1,25	5,53	29,83	<0,001	28
EMA/Crea	24,23	4,94	14,43	25,21	1,04	5,11	33,27	<0,001	26
SMG/Crea	38,06	8,28	21,81	42,20	1,11	10,26	46,52	<0,001	26
INO/Crea	46,14	16,08	21,86	80,38	1,74	7,61	38,68	<0,001	25
FMU/Crea	35,52	7,86	24,85	41,56	1,17	8,69	43,25	<0,001	28
EMI/Crea	70,48	29,26	39,37	146,31	2,08	24,59	57,74	<0,001	25
EMG/Crea	60,27	15,40	34,52	73,86	1,23	18,98	69,79	<0,001	23
ZMG/Crea	28,04	4,88	21,92	22,36	0,80	12,47	36,69	<0,001	21
ADE/Crea	28,13	6,44	14,84	34,05	1,21	9,92	36,04	<0,001	28
SMA/Crea	47,22	30,95	8,94	151,62	3,21	2,95	27,27	<0,001	24

Tab. 13 Renal ausgeschiedene Nukleoside und HS (in nmol/ μ mol Kreatinin) der überlebenden Patienten (n=28) zum präoperativen Zeitpunkt (Klasse 0)

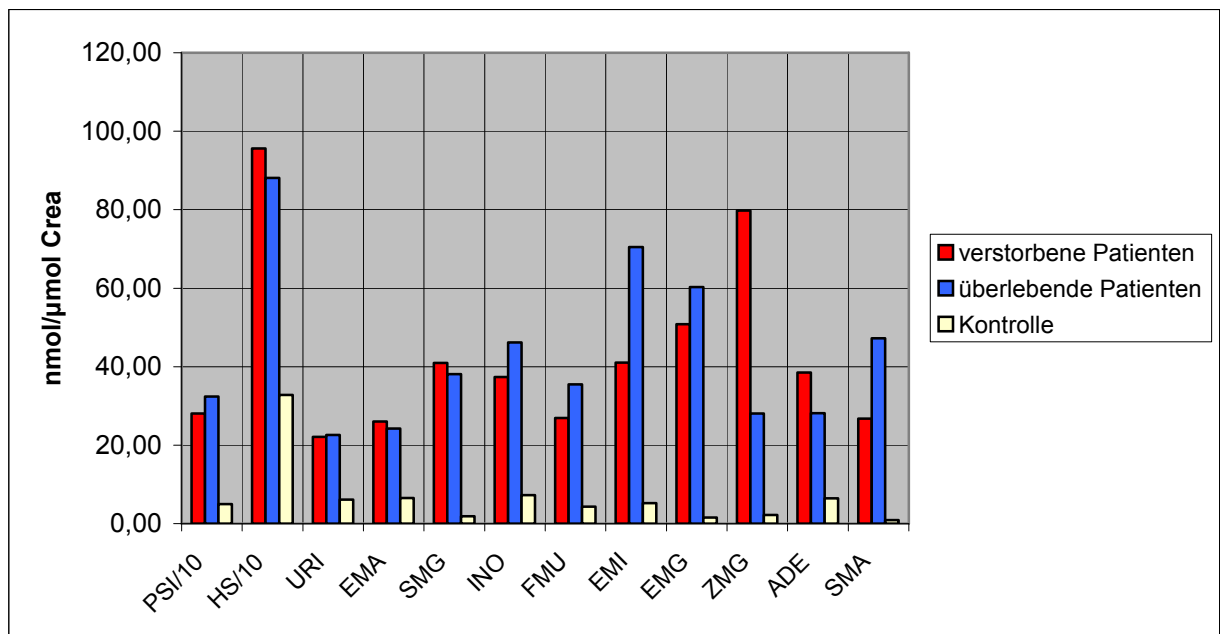


Abb. 15 Renal ausgeschiedene signifikant erhöhte Nukleoside und HS (in nmol/ μ mol Kreatinin) der verstorbenen (n=37) und überlebenden Patienten (n=28) zum präoperativen Zeitpunkt (Klasse 0) im Vergleich zur Kontrolle (n=41)

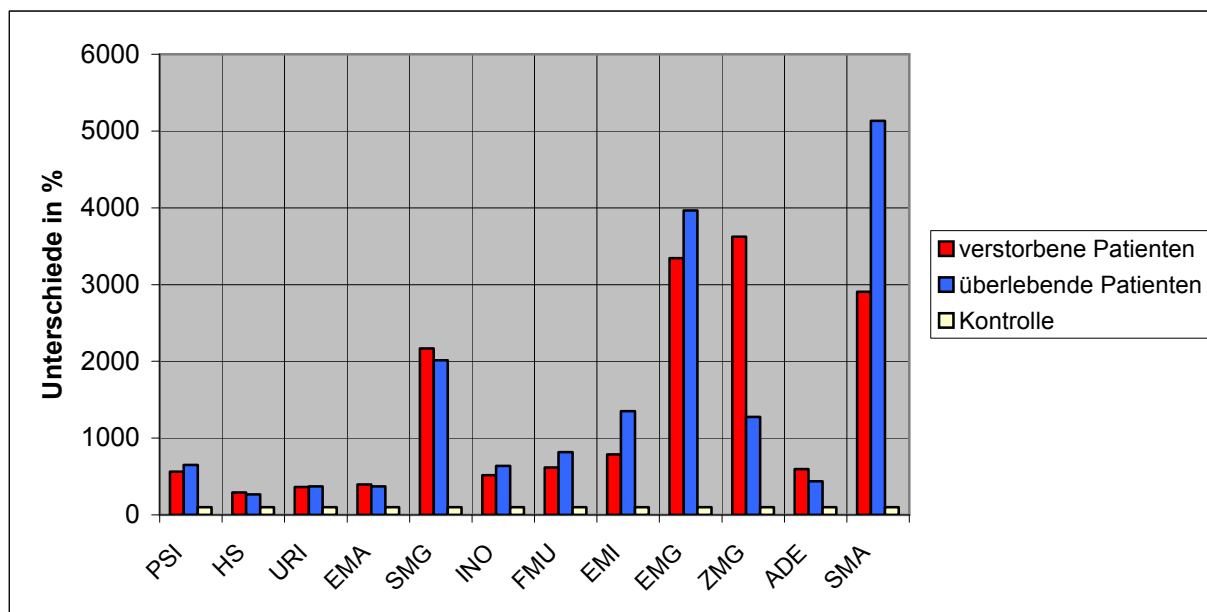


Abb. 16 Relative renale Ausscheidung signifikant erhöhter Nukleoside und HS (in %) der verstorbenen und überlebenden Patienten zum präoperativen Zeitpunkt (Klasse 0) im Vergleich zur Kontrolle (Nukleosidkonzentration der Kontrolle = 100%)

Abbildung 17 gibt eine Übersicht über die 5-Jahres-Überlebensrate der Lungentumorpatienten entsprechend dem präoperativ diagnostizierten Lymphknotenbefall.

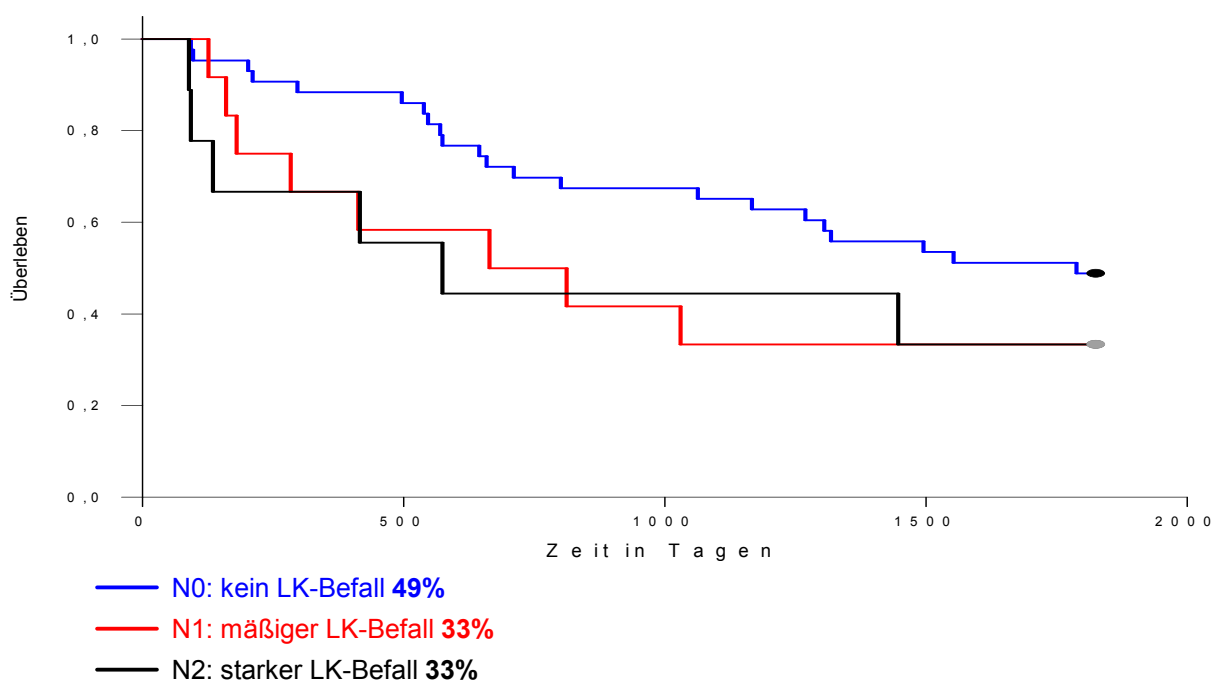


Abb. 17 Überlebensanalyse der Lungentumorpatienten bezüglich des Lymphknotenbefalls (Anzahl überlebender Patienten dargestellt in %)

Durch die zu geringen Fallzahlen war eine Prüfung auf Unterschiede nicht möglich. Von den Patienten ohne Lymphknotenbefall (n=43) waren nach fünf Jahren noch 49% am Leben (n=21). Patienten mit mäßigem Lymphknotenbefall (n=12) dagegen zeigten eine 5-Jahres-Überlebensrate von etwa 33% (n=4). Ebenso wiesen Patienten mit starkem Lymphknotenbefall, im Sinne des Tumorstadiums N2 (n=9), eine 5-Jahres-Überlebensrate von 33% (n=3) auf.

Anschließend betrachteten wir die Nukleosidkonzentrationen für den gesamten postoperativen Untersuchungszeitraum (Klasse 1-14), um deren Eignung in der Verlaufskontrolle des NSCLC bewerten zu können. Wir testeten zunächst alle Patienten und anschließend die verstorbenen sowie überlebenden Patienten separat auf Unterschiede gegenüber der Kontrollgruppe.

Die tabellarische Darstellung aller in Prozent dargestellten signifikanten Konzentrationen modifizierter Nukleoside wird in den Tabellen 41 bis 47 im Anhang aufgelistet.

Das prozentuale Verhältnis der signifikant erhöhten Konzentrationen von allen Patienten (n=65) im gesamten postoperativen Verlauf (Klasse 1-14) gegenüber der Kontrollgruppe ist in Abbildung 18 aufgeführt (Tab. 41, s. Anhang).

Bei dieser Bestimmung traten insbesondere die signifikant erhöhten Konzentrationen folgender Nukleoside auffällig in Erscheinung: SMG, EMG, ZMG und vor allem SMA. Diese Nukleoside wiesen in fast allen Klassen exorbitant hohe Abweichungen zur Kontrolle auf.

Zudem konnte für alle 12 Nukleoside, mit Ausnahme von SMA, ein deutlicher Konzentrationsrückgang gegenüber den präoperativen Werten der Patienten (Abb. 16; Tab. 40, s. Anhang) beobachtet werden. Für alle Nukleoside ließen sich für den gesamten postoperativen Untersuchungszeitraum zwei Peaks der Nukleosidkonzentrationen, einerseits um den siebten bis zehnten postoperativen Tag (Klasse 4-5) und andererseits um den ersten bis dritten postoperativen Monat (Klasse 10-11), erkennen. Dieses Phänomen zeigte sich auch in allen weiteren Untersuchungen nach Aufteilung unserer Patientendaten hinsichtlich bestimmter Merkmale und wird daher nur hier erwähnt.

SMG, EMG, ZMG und SMA traten auch nach Klassifizierung der Patienten bezüglich der Überlebensrate unter allen 12 Nukleosiden deutlich erhöht in Erscheinung (Abb. 19; Tab. 42, s. Anhang; Abb. 20; Tab. 43, s. Anhang).

Man erkennt allerdings im direkten Vergleich der Abbildungen 19 und 20, dass später verstorbene Patienten in etwa ab dem sechsten Monat nach der Operation (Klasse 13-14) einen erneuten Konzentrationsanstieg von ZMG und URI aufzeigten.

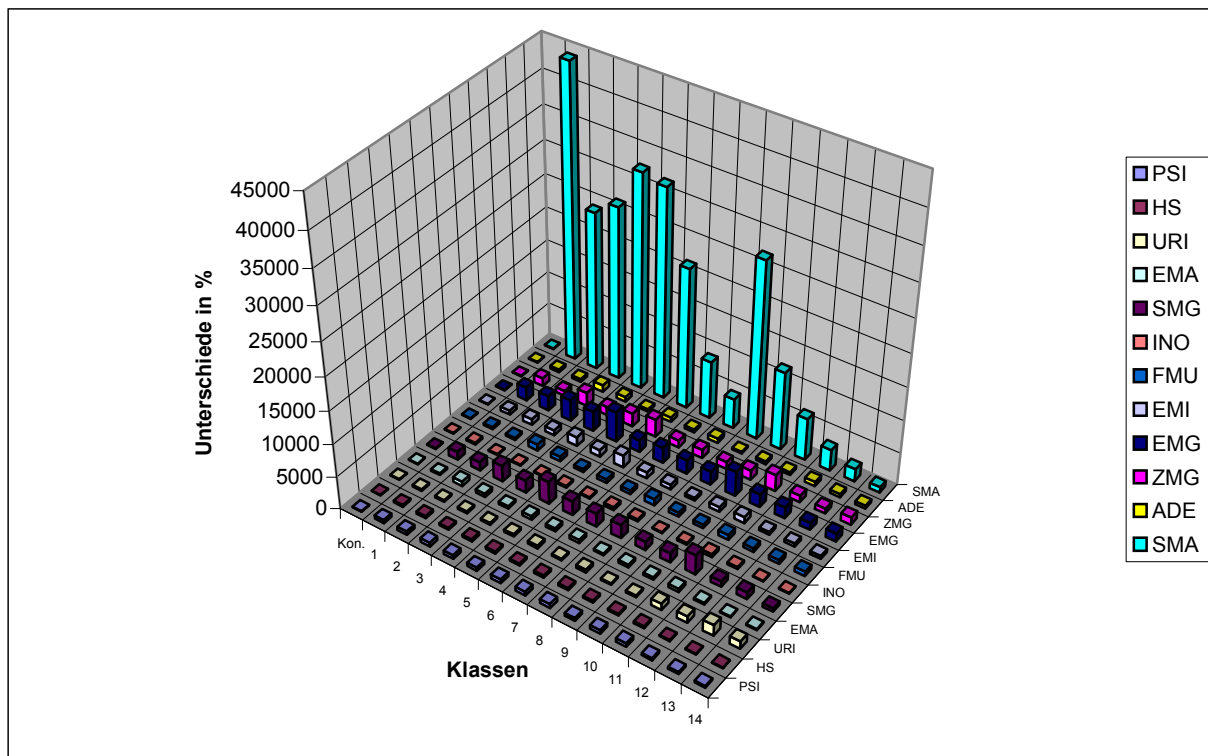


Abb. 18 Relative renale Ausscheidung signifikant erhöhter Nukleoside und HS (in %) aller Patienten im postoperativen Verlauf (Klasse 1-14) verglichen mit der Kontrolle (Nukleosidkonzentration der Kontrolle = 100%)

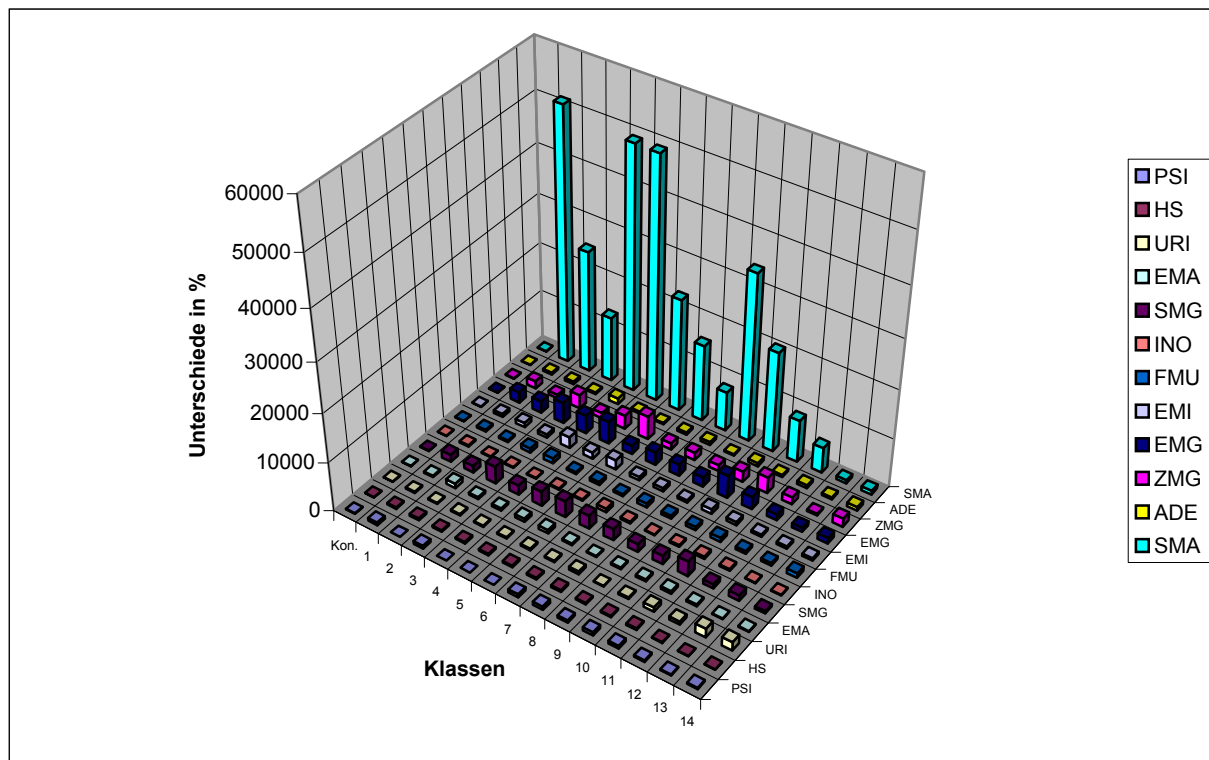


Abb. 19 Relative renale Ausscheidung signifikant erhöhter Nukleoside und HS (in %) verstorbener Patienten im postoperativen Verlauf (Klasse 1-14) verglichen mit der Kontrolle (Nukleosidkonzentration der Kontrolle = 100%)

Dabei wies insbesondere ZMG ab dem neunten postoperativen Monat (Klasse 13-14) signifikant erhöhte Konzentrationen verstorbener Patienten gegenüber der Kontrolle auf, wobei ZMG-Werte überlebender Patienten nicht derartig anstiegen. Ähnlich erhöht gegenüber der Kontrolle imponierte die Konzentration von URI bei später verstorbenen Patienten verglichen mit überlebenden Patienten ab dem neunten Monat nach der Operation (Klasse 14).

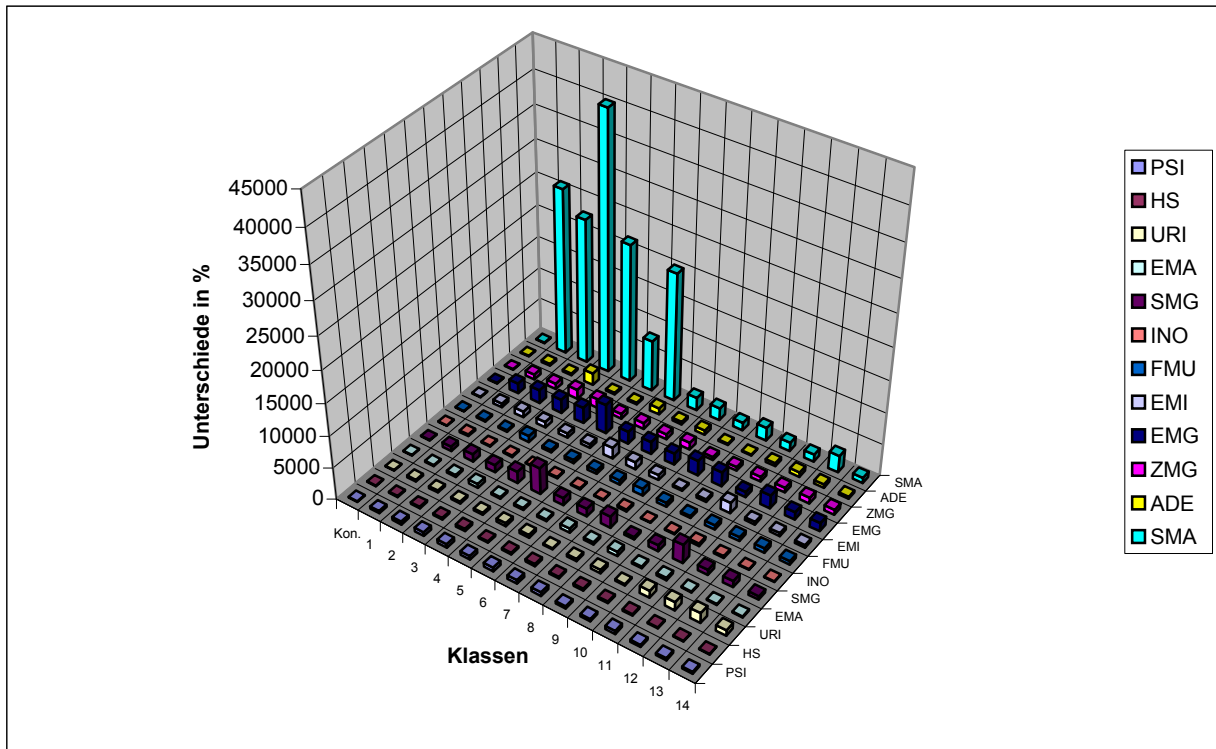


Abb. 20 Relative renale Ausscheidung signifikant erhöhter Nukleoside und HS (in %) überlebender Patienten im postoperativen Verlauf (Klasse 1-14) im Vergleich zur Kontrolle (Nukleosidkonzentration der Kontrolle = 100%)

Im Folgenden werden die in den bisherigen Untersuchungen auffallend erhöhten Nukleoside SMG (Abb. 21), EMG (Abb. 22), ZMG (Abb. 23), URI (Abb. 24) und SMA (Abb. 25) graphisch detailliert dargestellt. Eine Prüfung auf Unterschiede zwischen Werten der verstorbenen Patienten gegenüber Werten der überlebenden Patienten ergab aufgrund der geringen Fallzahl keine Ergebnisse. Die ZMG-Konzentrationen imponierten zum präoperativen Zeitpunkt (Klasse 0) bei verstorbenen Patienten höher als bei überlebenden Patienten. Zudem zeigte der direkte Vergleich verstorbener Patienten gegenüber überlebenden Patienten im Zeitraum der ersten sechs postoperativen Monate erhöhte Konzentrationen von SMG, ZMG und SMA. Die Nukleosidkonzentrationen von SMG sowie SMA verstorbener und überlebender Patienten glichen sich ab dem neunten Monat postoperativ wieder an. Im Gegensatz dazu demonstrierten ZMG und URI in etwa ab dem neunten Monat nach der Operation einen erneuten deutlichen Konzentrationsanstieg bei verstorbenen Patienten (Abb. 23; Abb. 24).

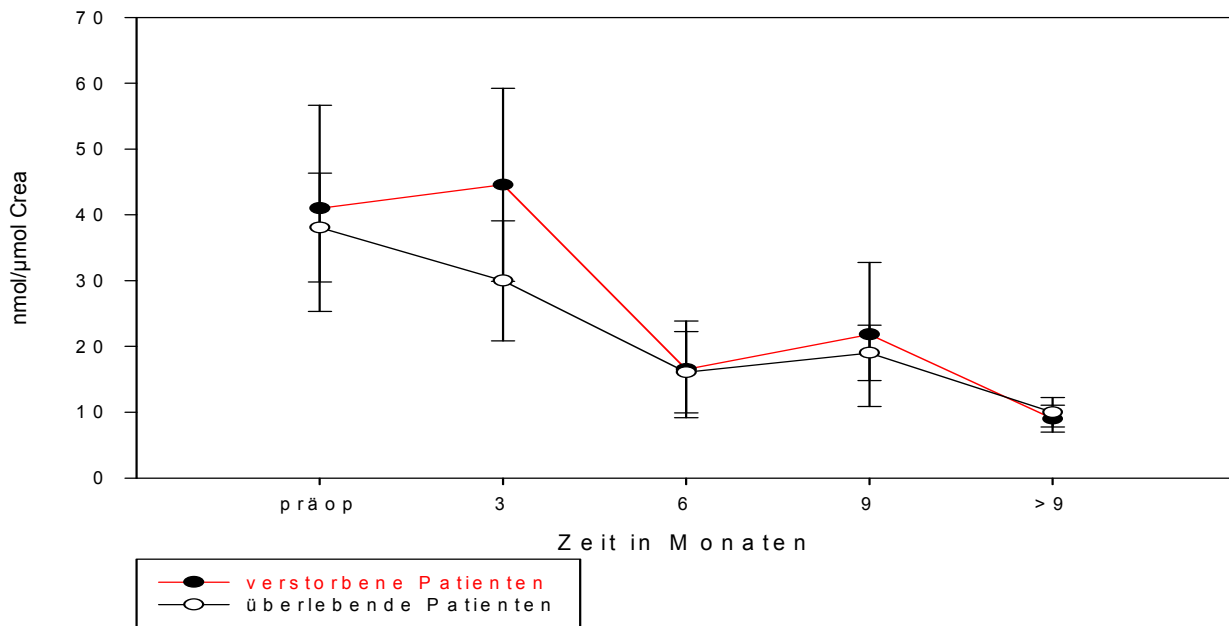


Abb. 21 Renal ausgeschiedene SMG-Konzentration (in nmol/μmol Crea) verstorbener Patienten gegenüber überlebenden Patienten für den gesamten Krankheitsverlauf (Klasse 0-14)

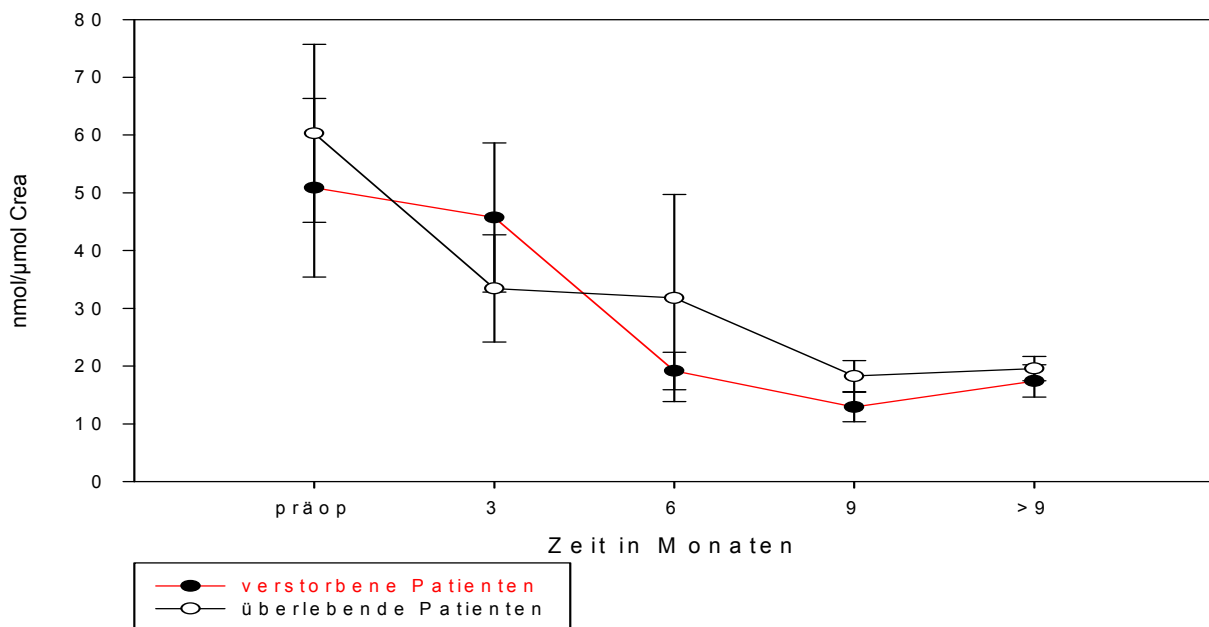


Abb. 22 Renal ausgeschiedene EMG-Konzentration (in nmol/μmol Crea) verstorbener Patienten gegenüber überlebenden Patienten für den gesamten Krankheitsverlauf (Klasse 0-14)

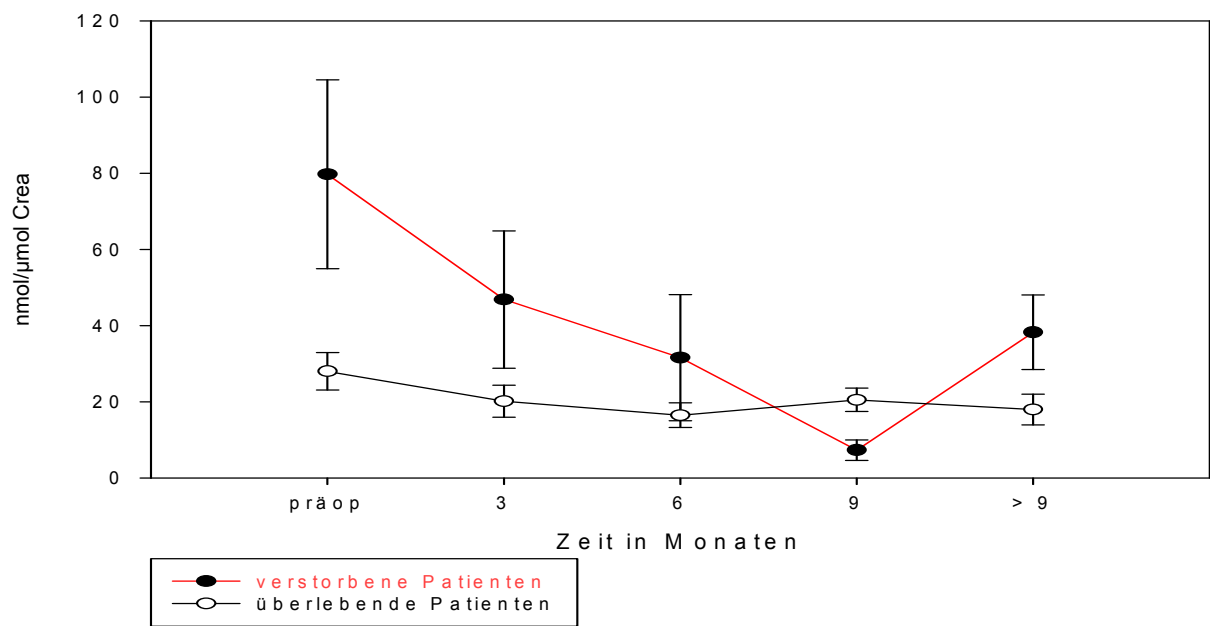


Abb. 23 Renal ausgeschiedene ZMG-Konzentration (in nmol/μmol Crea) verstorbener Patienten gegenüber überlebenden Patienten für den gesamten Krankheitsverlauf (Klasse 0-14)

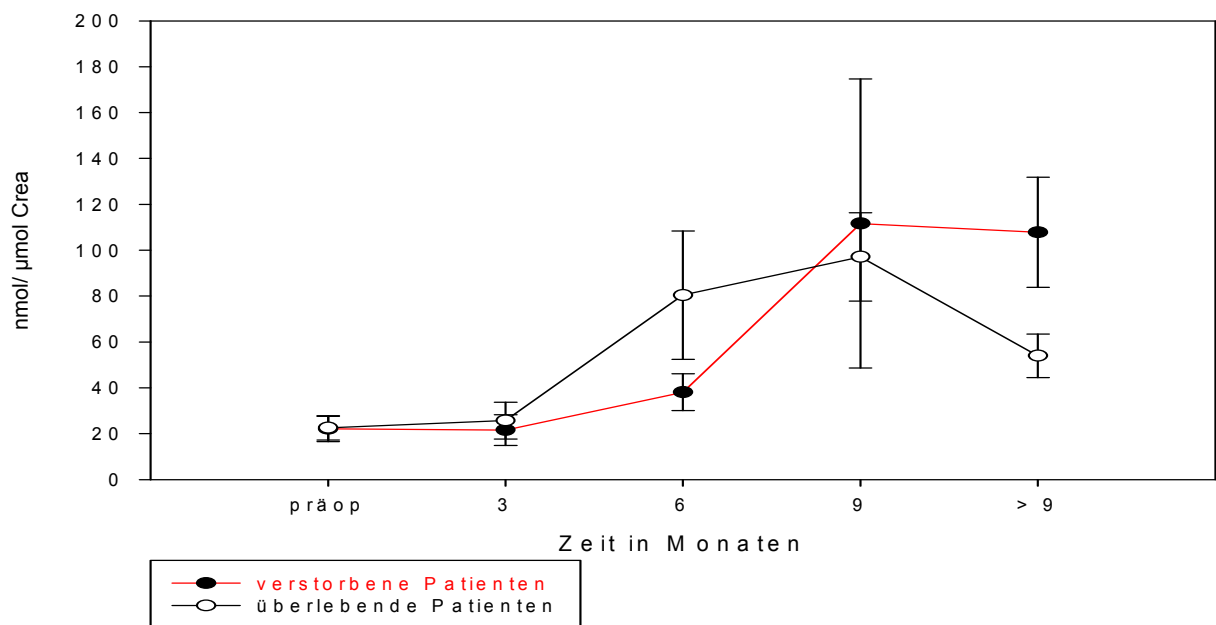


Abb. 24 Renal ausgeschiedene URI-Konzentration (in nmol/μmol Crea) verstorbener Patienten gegenüber überlebenden Patienten für den gesamten Krankheitsverlauf (Klasse 0-14)

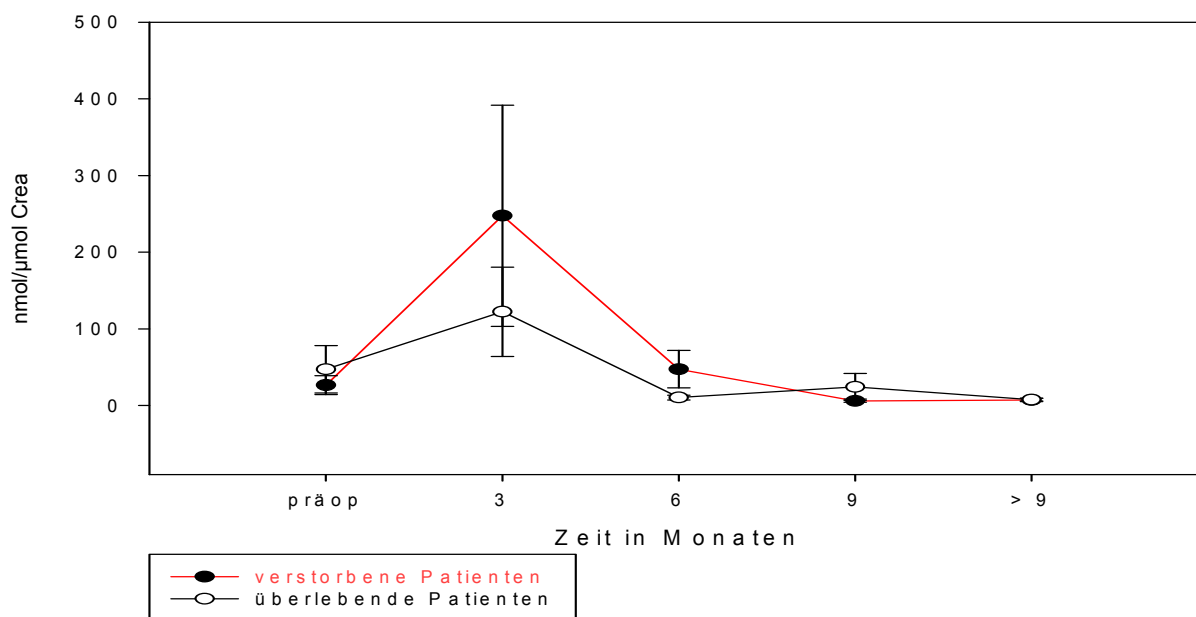


Abb. 25 Renal ausgeschiedene SMA-Konzentration (in nmol/μmol Crea) verstorbener Patienten gegenüber überlebenden Patienten für den gesamten Krankheitsverlauf (Klasse 0-14)

Des Weiteren zeigen wir die berechneten Werte der Lungentumorph Patienten aufgeteilt nach der jeweiligen Operation. In Abbildung 26 ist zunächst eine Überlebensanalyse der Lungentumorph Patienten bezogen auf einen Zeitraum von fünf Jahren in Abhängigkeit der jeweiligen Operation dargestellt. Patienten, die mit einer Keil-/Segmentresektion chirurgisch versorgt wurden (n=12) zeigten mit nur 25% eine um die Hälfte niedrigere 5-Jahres-Überlebensrate verglichen mit Patienten mit Lobektomie (n=42), Pneumektomie (n=9) oder Bilobektomie (n=2), die alle eine annähernd gleiche 5-Jahresüberlebensrate zwischen 44% und 50% aufwiesen.

Bedeutende Konzentrationsunterschiede der Nukleoside zwischen der Patienten- und Kontrollgruppe waren aufgrund der Fallzahl für Patienten mit Lobektomie und Pneumektomie möglich.

Auffallend abweichend erhöht gegenüber Werten der Kontrollgruppe traten bei Patienten mit Lobektomie wiederum folgende Nukleosidkonzentrationen in Erscheinung: SMG, EMG, ZMG und SMA (Abb. 27; Tab. 44, s. Anhang).

Patienten, die mit einer Pneumektomie chirurgisch versorgt wurden, zeigten im Verlauf deutlich erhöhte Nukleosidkonzentrationen vor allem für die Nukleoside SMG, EMG, ZMG und SMA. Eine genaue graphische Darstellung der prozentualen Verteilung gibt Abbildung 28 (Tab. 45, s. Anhang).

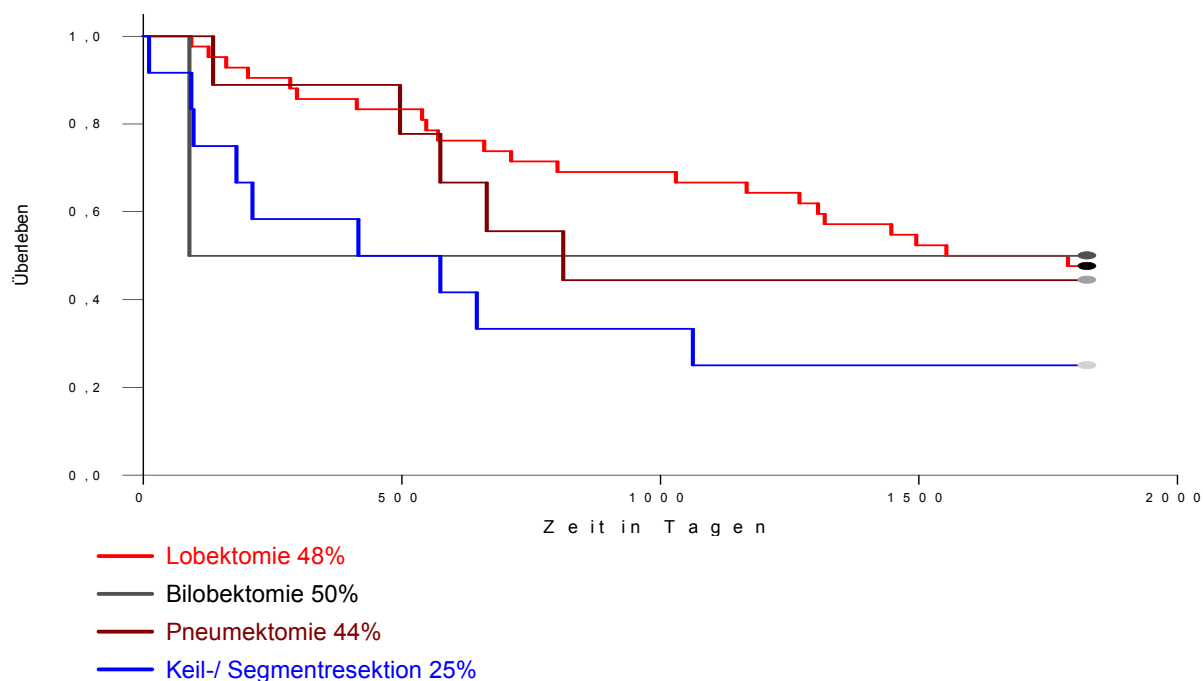


Abb. 26 Überlebensanalyse der Lungentumorkranken in Abhängigkeit von den Operationsverfahren (Anzahl überlebender Patienten dargestellt in %)

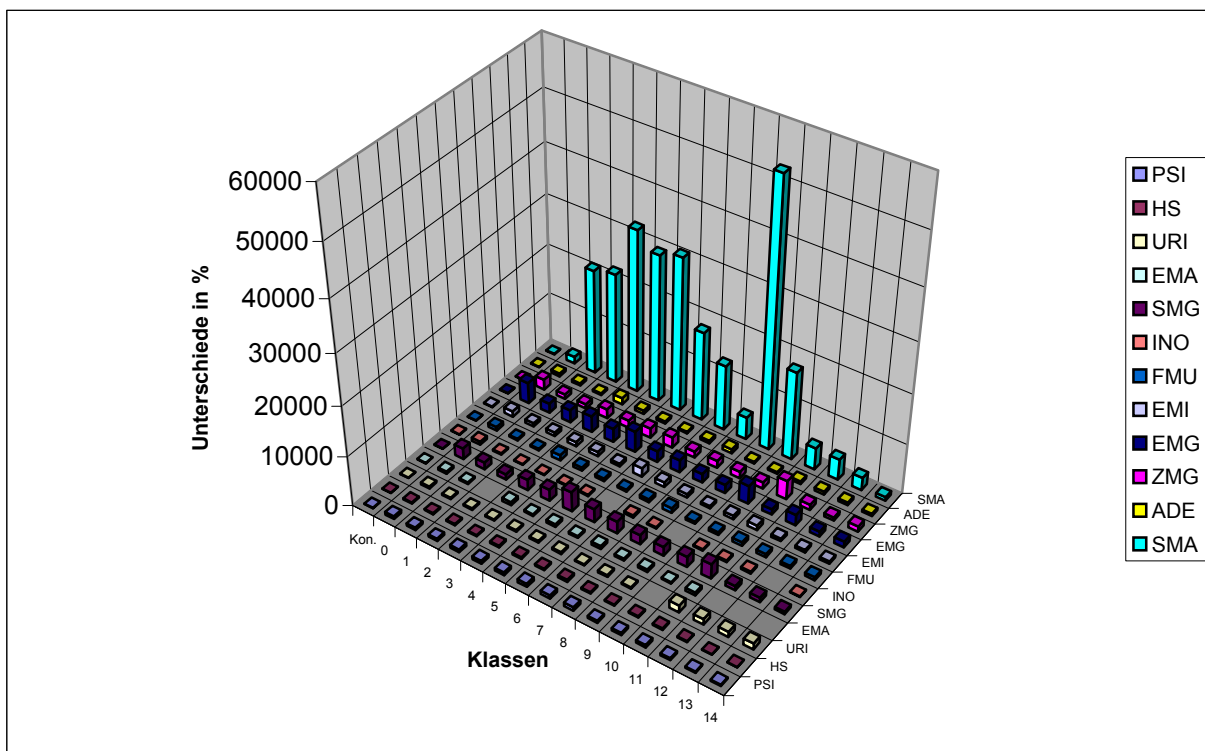


Abb. 27 Relative renale Ausscheidung signifikant erhöhter Nukleoside und HS (in %) der Patienten mit Lobektomie für den gesamten Untersuchungszeitraum (Klasse 0-14) im Vergleich zur Kontrolle (Nukleosidkonzentration der Kontrolle = 100%)

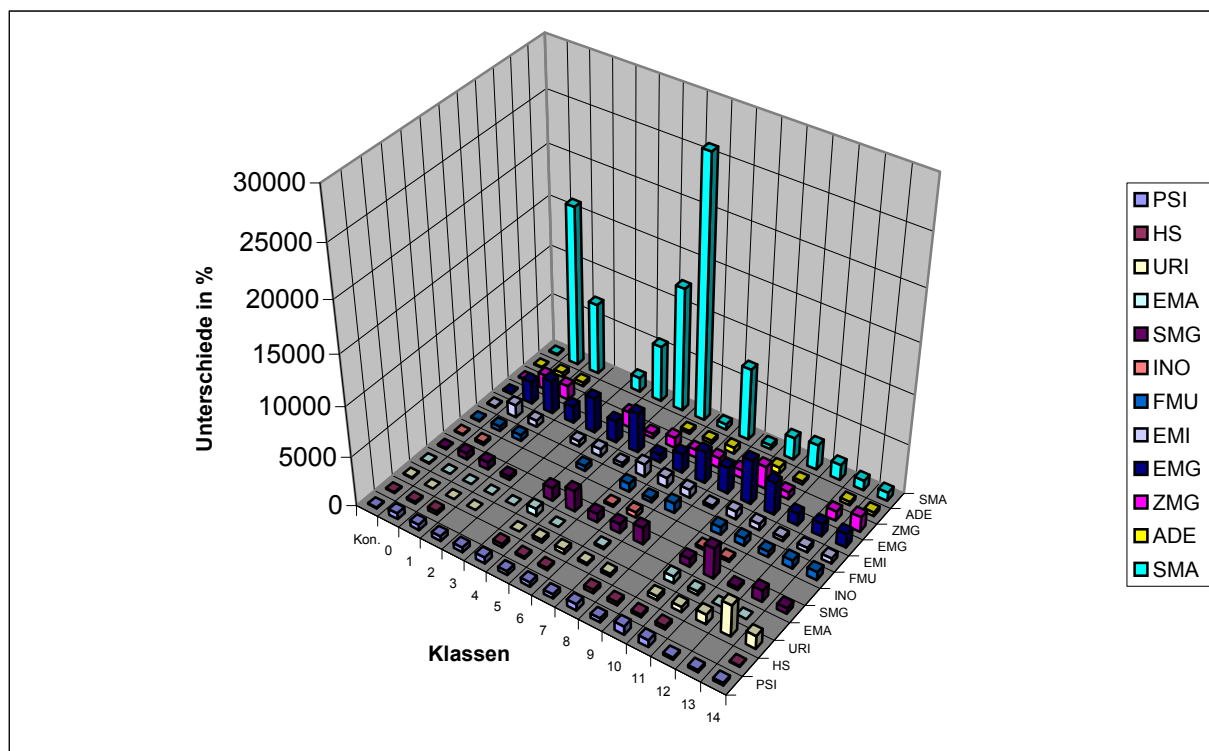


Abb. 28 Relative renale Ausscheidung signifikant erhöhter Nukleoside und HS (in %) der Patienten mit Pneumektomie für den gesamten Untersuchungszeitraum (Klasse 0-14) im Vergleich zur Kontrolle (Nukleosidkonzentration der Kontrolle = 100%)

Auch in Abhängigkeit der einzelnen Operationsverfahren wurden die in unseren bisherigen Berechnungen auffallend erhöhten Nukleoside SMG (Abb. 29), EMG (Abb. 30), ZMG (Abb. 31), URI (Abb. 32) und SMA (Abb. 33) graphisch detailliert dargestellt. Trotz überwiegend nicht signifikanter Werte der Patienten mit Keil-/Segmentresektion ist dieses Operationsverfahren zur besseren Übersicht auch in den Graphen enthalten.

Hierbei zeigten sich bei SMG und ZMG zunächst deutlich erhöhte Konzentrationen für Patienten mit Keil-/Segmentresektion, gefolgt von Patienten mit Lobektomie. Bei Patienten mit Pneumektomie ließen sich präoperativ erhöhte SMA-Konzentrationen erkennen, allerdings verglichen mit den anderen Operationsverfahren erniedrigte SMG- sowie ZMG-Konzentrationen. URI wies um den neunten postoperativen Monat insbesondere bei Patienten mit Pneumektomie und geringer für Patienten mit Keil-/Segmentresektion einen Peak auf.

Ab etwa neun Monaten nach der Operation, bei SMA bereits ab sechs Monaten postoperativ, glichen sich die einzelnen Nukleosidkonzentrationen der verschiedenen Operationsverfahren an.

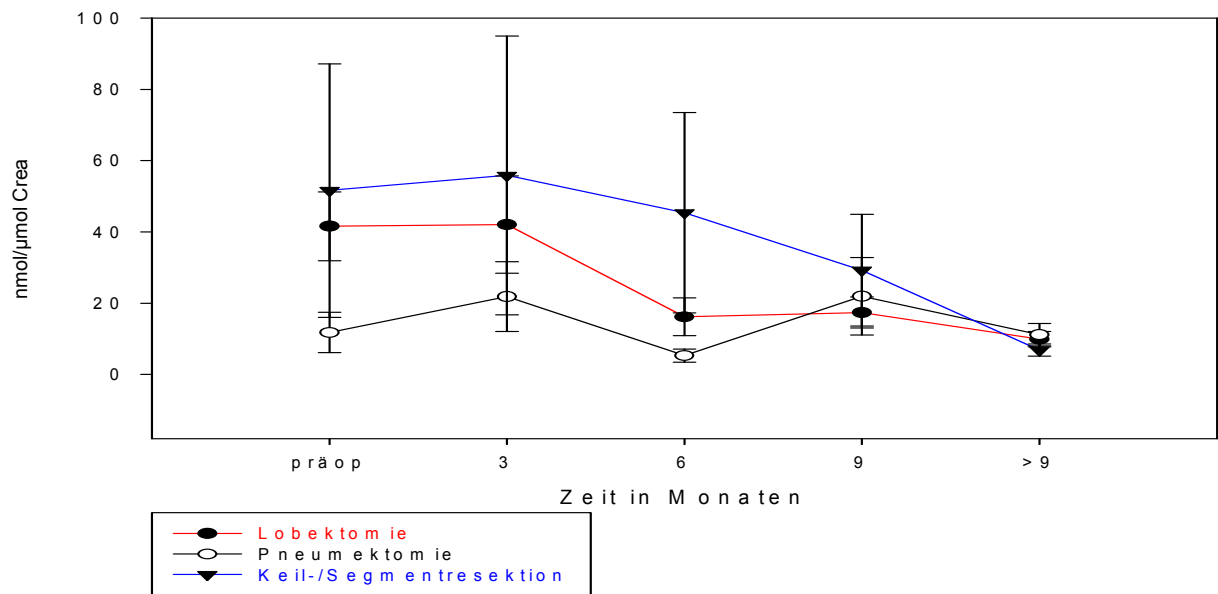


Abb. 29 Renal ausgeschiedene SMG-Konzentration (in nmol/μmol Crea) von Patienten mit Lobektomie, Pneumektomie sowie Keil-/Segmentresektion für den gesamten Krankheitsverlauf (Klasse 0-14)

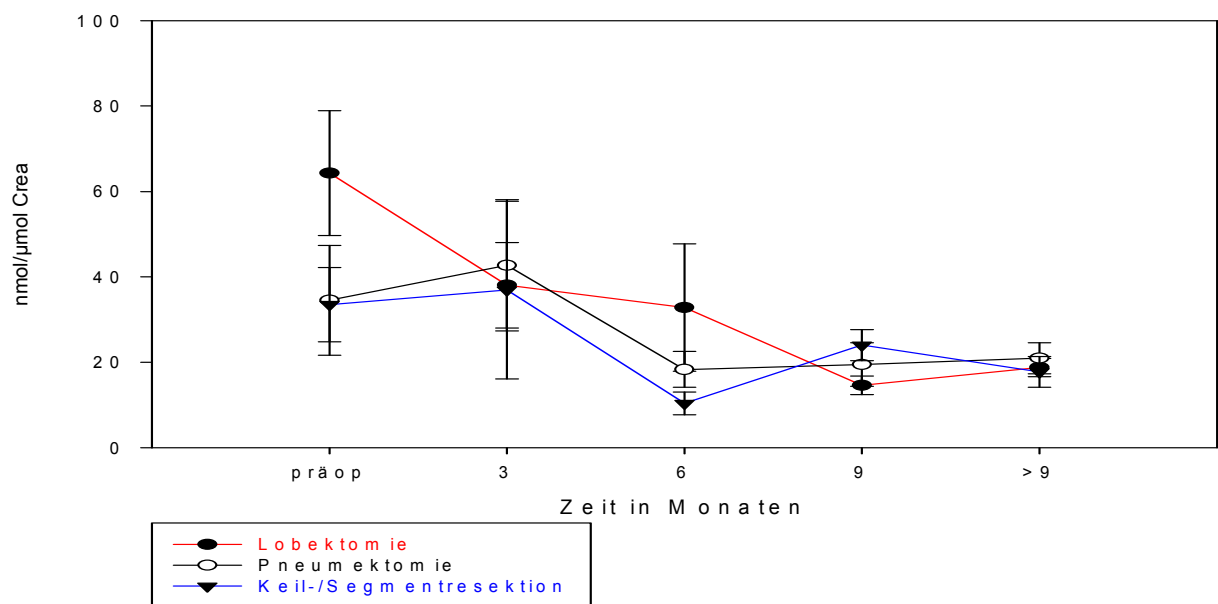


Abb. 30 Renal ausgeschiedene EMG-Konzentration (in nmol/μmol Crea) von Patienten mit Lobektomie, Pneumektomie sowie Keil-/Segmentresektion für den gesamten Krankheitsverlauf (Klasse 0-14)

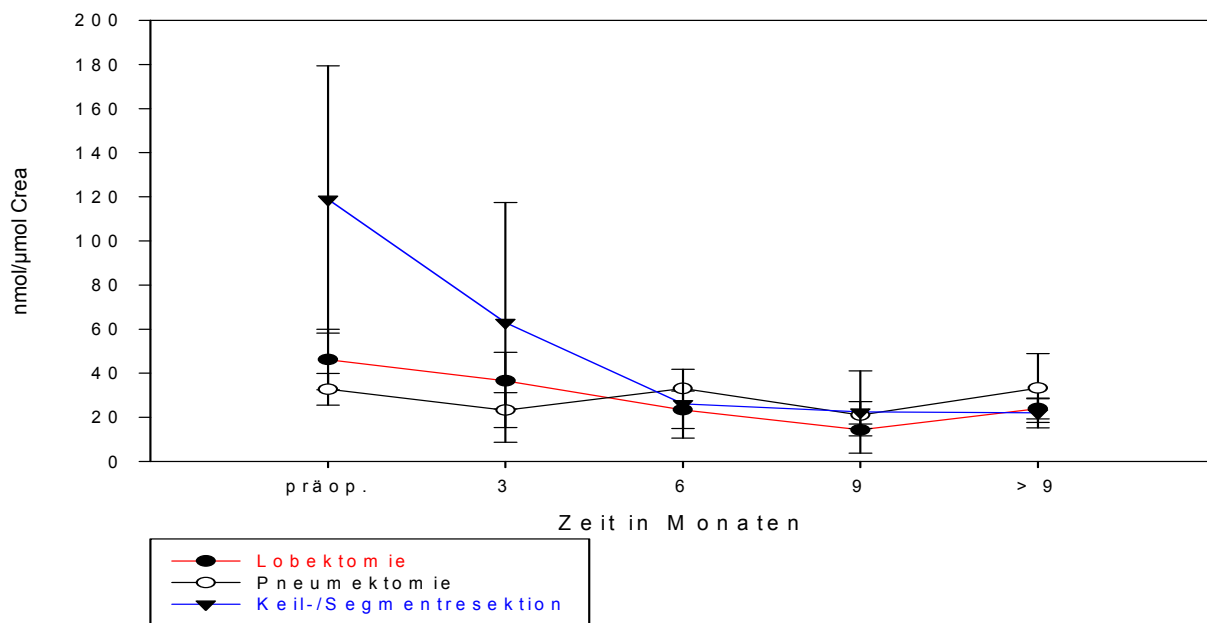


Abb. 31 Renal ausgeschiedene ZMG-Konzentration (in nmol/μmol Crea) von Patienten mit Lobektomie, Pneumektomie sowie Keil-/Segmentresektion für den gesamten Krankheitsverlauf (Klasse 0-14)

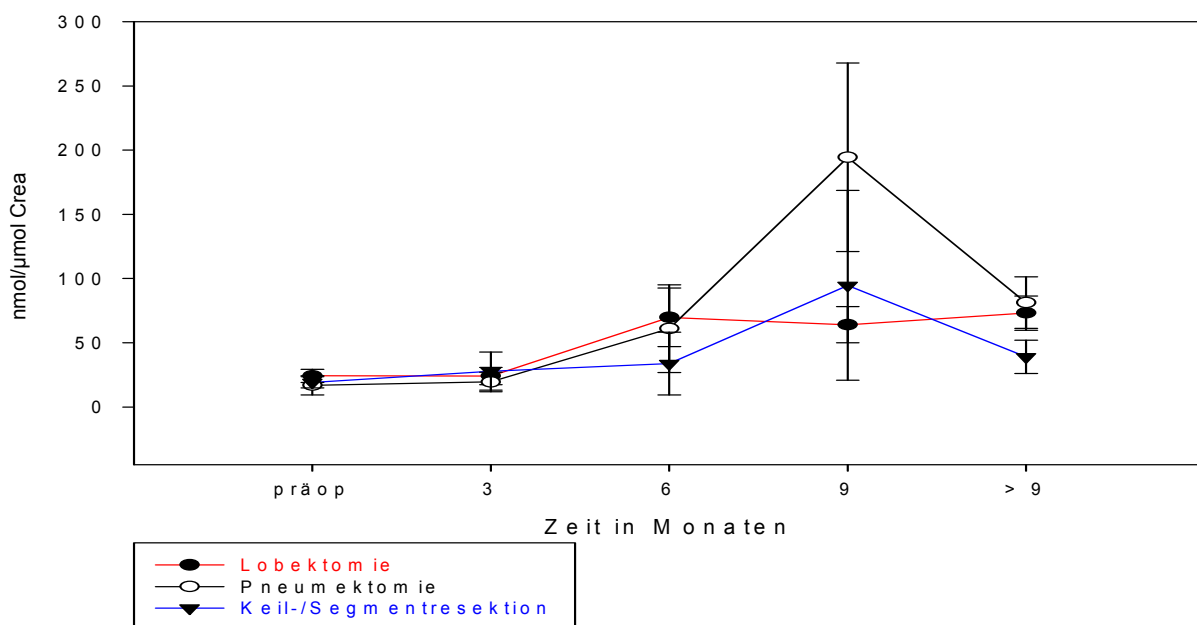


Abb. 32 Renal ausgeschiedene URI-Konzentration (in nmol/μmol Crea) von Patienten mit Lobektomie, Pneumektomie sowie Keil-/Segmentresektion für den gesamten Krankheitsverlauf (Klasse 0-14)

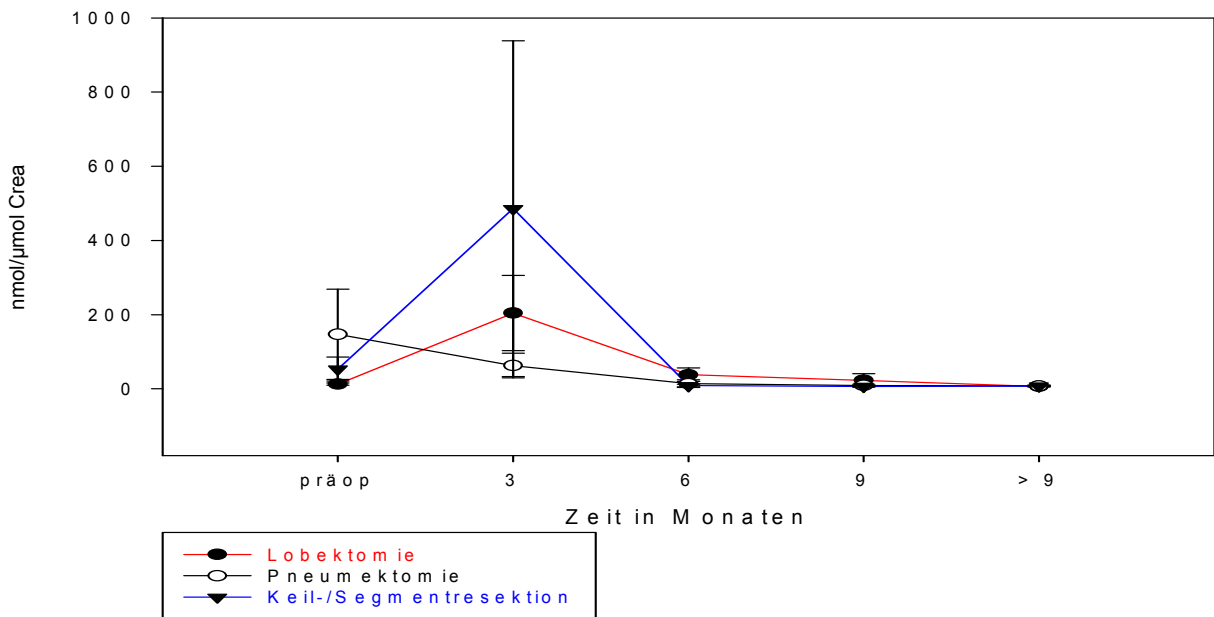


Abb. 33 Renal ausgeschiedene SMA-Konzentration (in nmol/μmol Crea) von Patienten mit Lobektomie, Pneumektomie sowie Keil-/Segmentresektion für den gesamten Krankheitsverlauf (Klasse 0-14)

Im folgenden Abschnitt werden die Nukleosidwerte der Tumorpatienten aufgeteilt nach Plattenepithelkarzinom und Adenokarzinom der Lunge aufgezeigt.

Die 5-Jahres-Überlebensanalyse für Patienten mit Plattenepithelkarzinom, Adenokarzinom und benignen Neoplasien der Lunge ist in Abbildung 34 graphisch dargestellt. Dabei hatten erwartungsgemäß benigne Neoplasien der Lunge mit 75% die höchste 5-Jahres-Überlebensrate, wohingegen Patienten unserer Probandengruppe mit einem Plattenepithelkarzinom eine 5-Jahres-Überlebensrate von 50% und Patienten mit Adenokarzinom von nur 30% aufwiesen.

Patienten mit einem Plattenepithelkarzinom zeigten für alle 12 Nukleoside präoperativ stark erhöhte Werte. Auffallend abweichend erhöht zur Kontrollgruppe sind in dieser Berechnung die Nukleosidkonzentrationen von SMG, EMG, ZMG sowie SMA (Abb. 35; Tab. 46, s. Anhang).

Auch Patienten, die an einem Adenokarzinom erkrankt waren, zeigten stark erhöhte Werte für alle 12 Nukleoside mit besonders auffälliger Abweichung von SMG, EMG, ZMG und SMA (Abb. 36; Tab. 47, s. Anhang).

Erwähnenswert sind insbesondere die stark erhöhten präoperativen Werte (Klasse 0) von ZMG. Diese sind bei Patienten mit Adenokarzinom etwa doppelt so hoch wie ZMG-Level der Patienten mit Plattenepithelkarzinom.

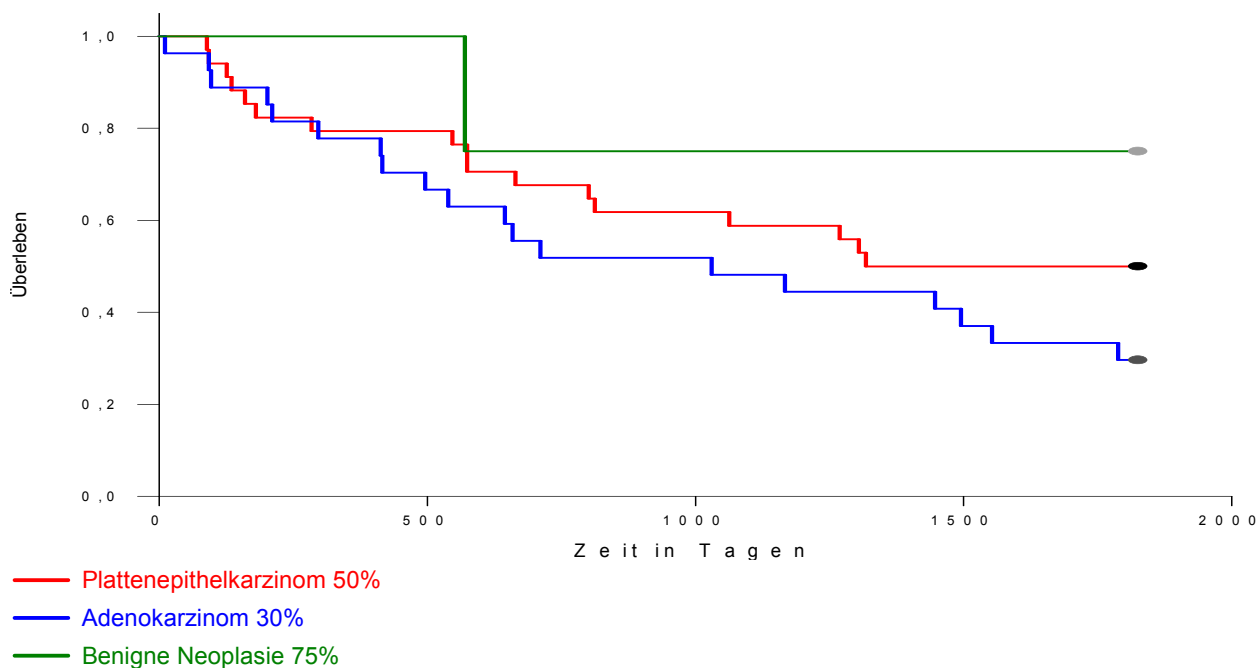


Abb. 34 Überlebensanalyse der Tumorpationen in Abhängigkeit von der Lungentumorart (Anzahl überlebender Patienten dargestellt in %)

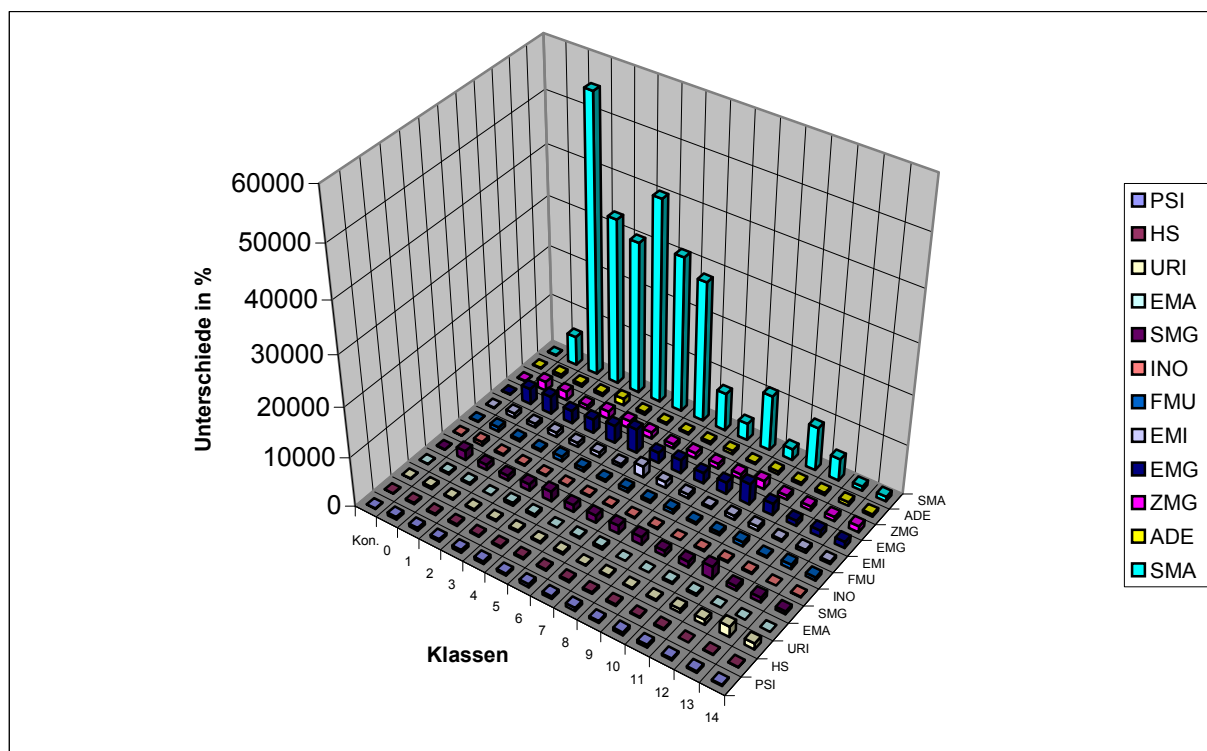


Abb. 35 Relative renale Ausscheidung signifikant erhöhter Nukleoside und HS (in %) der Patienten mit Plattenepithelkarzinom für den gesamten Untersuchungszeitraum (Klasse 0-14) im Vergleich zur Kontrolle (Nukleosidkonzentration der Kontrolle = 100%)

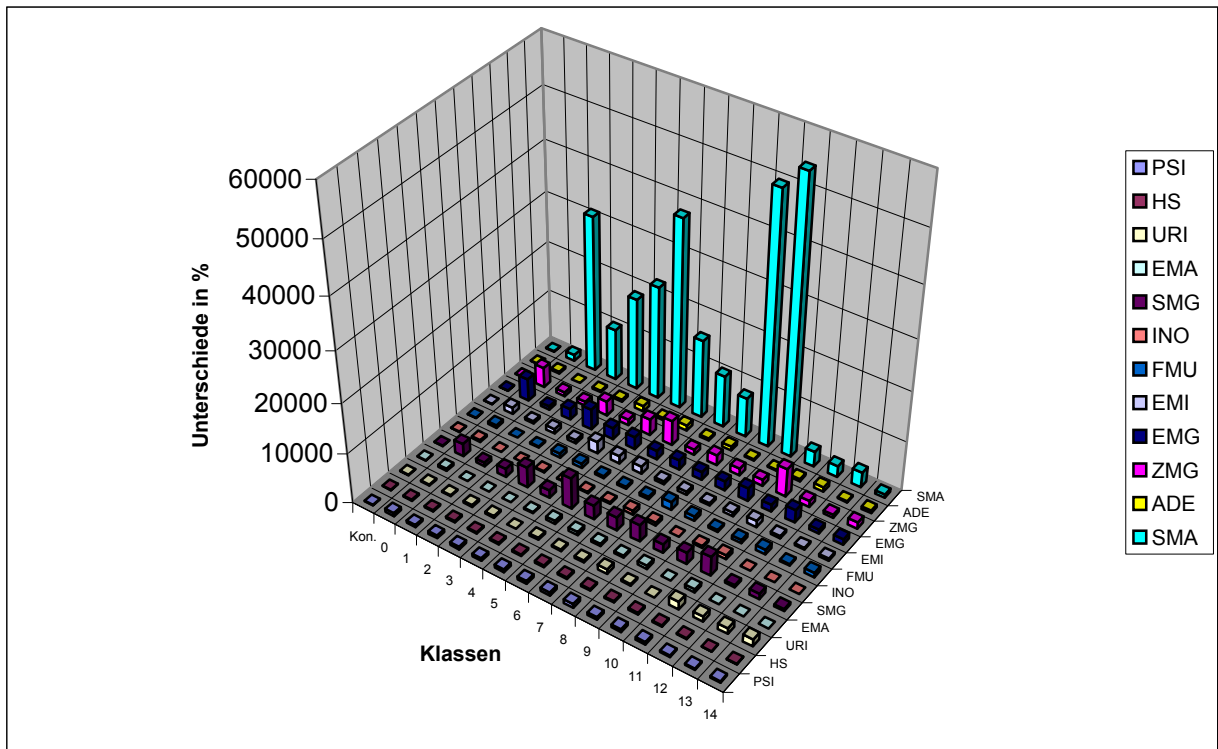


Abb 36. Relative renale Ausscheidung signifikant erhöhter Nukleoside und HS (in %) der Patienten mit Adenokarzinom für den gesamten Untersuchungszeitraum (Klasse 0-14) im Vergleich zur Kontrolle (Nukleosidkonzentration der Kontrolle = 100%)

In den Abbildungen 37 bis 39 werden die absoluten Nukleosidkonzentrationen von ZMG, URI und SMA der Patienten mit Plattenepithelkarzinom und Adenokarzinom für den gesamten Krankheitsverlauf (Klasse 0-14) graphisch dargestellt.

Während SMA einen annähernd gleichen Konzentrationsverlauf bei beiden Patientengruppen zeigte, wiesen Patienten mit einem Adenokarzinom der Lunge präoperativ (Klasse 0) stark erhöhte ZMG-Konzentrationen gegenüber Patienten mit Plattenepithelkarzinom auf. Bis zu einem Zeitpunkt von neun Monaten oder mehr nach der Operation glichen sich die ZMG-Konzentrationen beider Patientengruppen wieder an. Bei URI ließ sich für Patienten mit Adenokarzinom über den gesamten Untersuchungszeitraum eine stetige Zunahme erkennen, welche auch über den neunten postoperativen Monat hinaus bestehen blieb. Patienten mit Plattenepithelkarzinom hingegen wiesen ab dem neunten postoperativen Monat einen stetigen Konzentrationsrückgang von URI auf.

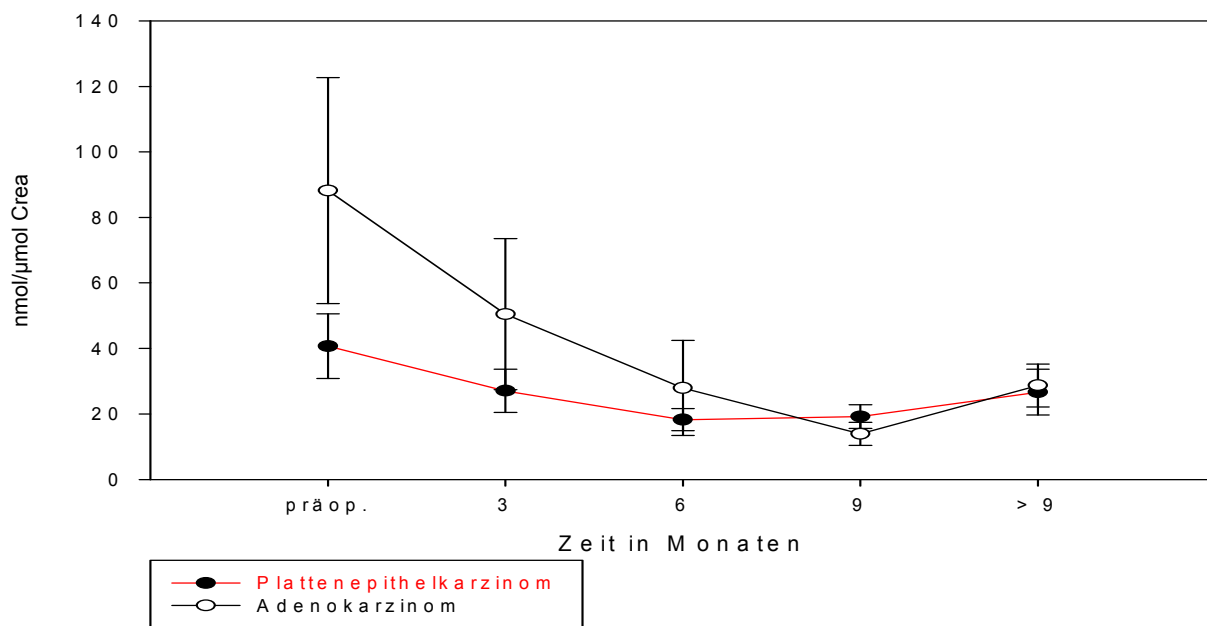


Abb. 37 Renal ausgeschiedene ZMG-Konzentration (in nmol/μmol Crea) von Patienten mit Plattenepithelkarzinom sowie mit Adenokarzinom der Lunge für den gesamten Krankheitsverlauf (Klasse 0-14)

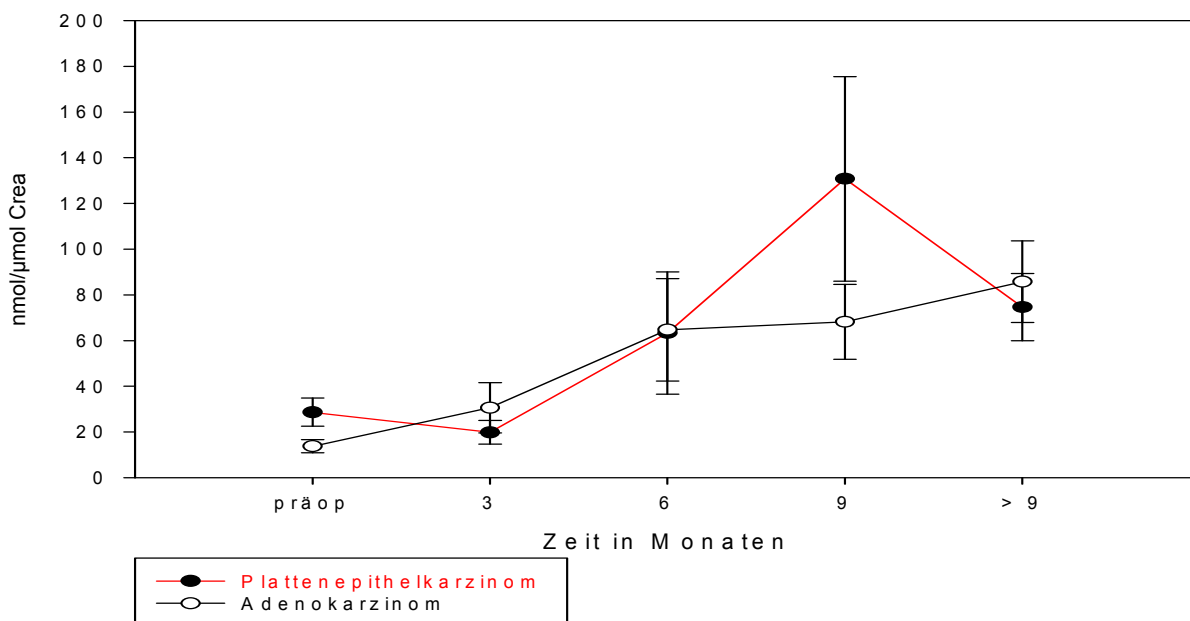


Abb. 38 Renal ausgeschiedene URI-Konzentration (in nmol/μmol Crea) von Patienten mit Plattenepithelkarzinom sowie mit Adenokarzinom der Lunge für den gesamten Krankheitsverlauf (Klasse 0-14)

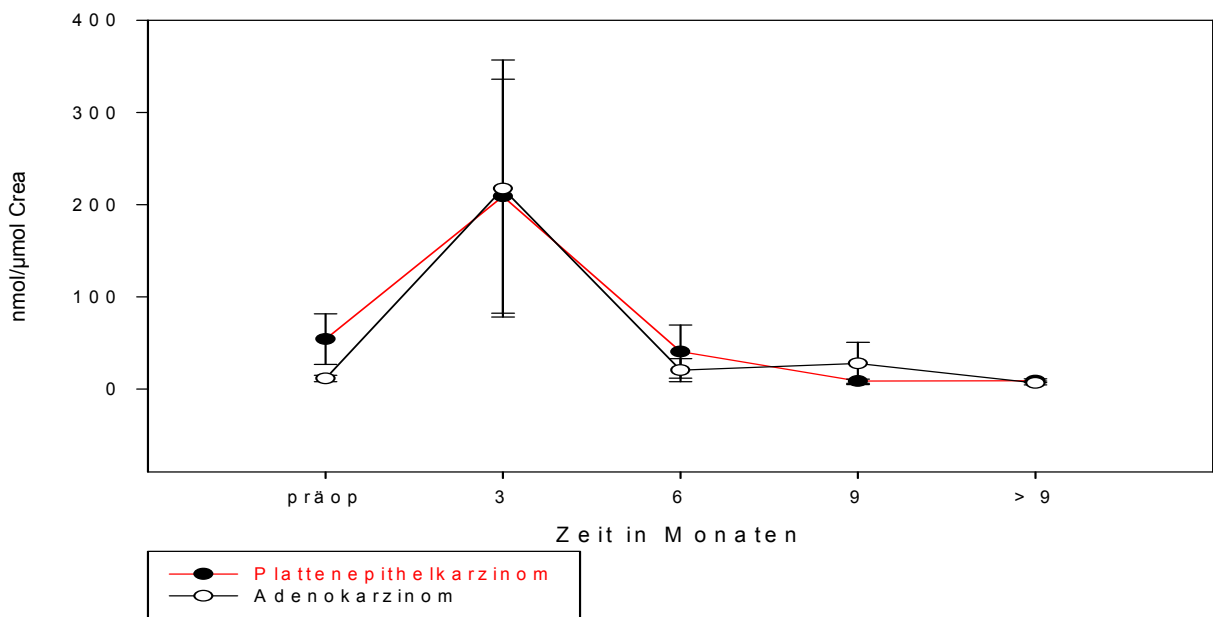


Abb. 39 Renal ausgeschiedene SMA-Konzentration (in nmol/μmol Crea) von Patienten mit Plattenepithelkarzinom sowie mit Adenokarzinom der Lunge für den gesamten Krankheitsverlauf (Klasse 0-14)

3.2 Analytische Auswertung

Im Anschluss an die deskriptive Untersuchung zu Unterschieden der Nukleoside erfolgte eine analytische Auswertung mit Hilfe der logistischen Regression (Programm STATISTICA), (StatSoft 2005), um die Wertigkeit der einzelnen Nukleoside bezüglich ihrer prognostischen Aussagekraft beurteilen zu können. Hierzu wurde die Patientengruppe wieder hinsichtlich ihrer Überlebensrate aufgeteilt.

Zunächst erfolgte die Berechnung allgemein für den gesamten Untersuchungszeitraum (Klasse 0-14) und anschließend getrennt für den Zeitraum vom ersten Tag bis zum dritten Monat postoperativ (Klasse 1-11) und für den Zeitraum ab dem dritten postoperativen Monat (Klasse 12-14). Durch die zu geringe Fallzahl mussten die fehlenden Nukleosidwerte durch den Mittelwert ersetzt werden. Zur Unterstützung unserer Aussagen in dieser Berechnung bestimmten wir anschließend die relativen Mittelwerte der modifizierten Nukleoside, indem wir die Mittelwerte der Nukleosidkonzentrationen der Patientengruppe durch die Mittelwerte der Kontrollgruppe teilten. In dieser Berechnung wurden die fehlenden Werte nicht durch den Mittelwert ersetzt.

In der logistischen Regression der verstorbenen und der überlebenden Patienten gegenüber der Kontrollgruppe für den gesamten Zeitraum (Klasse 0-14) zeigten sich FMU, SMG, EMI, EMG,

ZMG und SMA als Marker für eine ungünstige Prognose des NSCLC (Tab. 14; Tab. 15). Falls diese Nukleoside in erhöhter Konzentration vorlagen, bestand für die Patienten ein erhöhtes Risiko innerhalb der ersten fünf Jahre nach der Diagnose Lungenkrebs beziehungsweise nach der entsprechenden Operation zu versterben.

Diese Aussage wurde durch die Berechnung der relativen Mittelwerte der Nukleosidkonzentrationen der verstorbenen und der überlebenden Patienten für den kompletten Untersuchungszeitraum (Klassen 0-14) bestätigt (Abb. 40; Tab. 48, s. Anhang). Es zeigte sich ein deutlicher Unterschied zwischen den Nukleosidkonzentrationen der verstorbenen und überlebenden Patienten. Insbesondere die Konzentrationen von SMA und ZMG waren bei verstorbenen Patienten um mehr als das Doppelte erhöht.

	PSI	HS	URI	EMA	FMC	SMG	INO	FMU	EMI	EMG	ZMG	ADE	SMA
p-Niveau	0,7248	0,4031	0,076	0,7000	0,0726	0,0418	0,2771	0,0223	0,0007	0,0014	0,0005	0,7621	0,0030
Odds Ratio	1,4725	2,4536	8,107	1,6781	0,0691	8,7245	0,286	29,6703	77,108	108,4572	147,9578	0,7442	61,8772

Tab. 14 Ergebnisse der logistischen Regression für die Fallzahl der verstorbenen Patienten des gesamten Untersuchungszeitraumes (Klasse 0-14, n=352) gegenüber der Kontrolle (n=41)

	PSI	HS	URI	EMA	FMC	SMG	INO	FMU	EMI	EMG	ZMG	ADE	SMA
p-Niveau	0,9284	0,7161	0,2469	0,8790	0,065	0,0032	0,1374	0,031	0,0018	0,0030	0,0095	0,3045	0,0155
Odds Ratio	0,8944	1,6114	4,1401	0,822	0,045	59,3268	0,202	20,994	119,4266	132,7922	32,9602	0,2814	41,791

Tab. 15 Ergebnisse der logistischen Regression für die Fallzahl der überlebenden Patienten des gesamten Untersuchungszeitraumes (Klasse 0-14, n=324) gegenüber der Kontrolle (n=41)

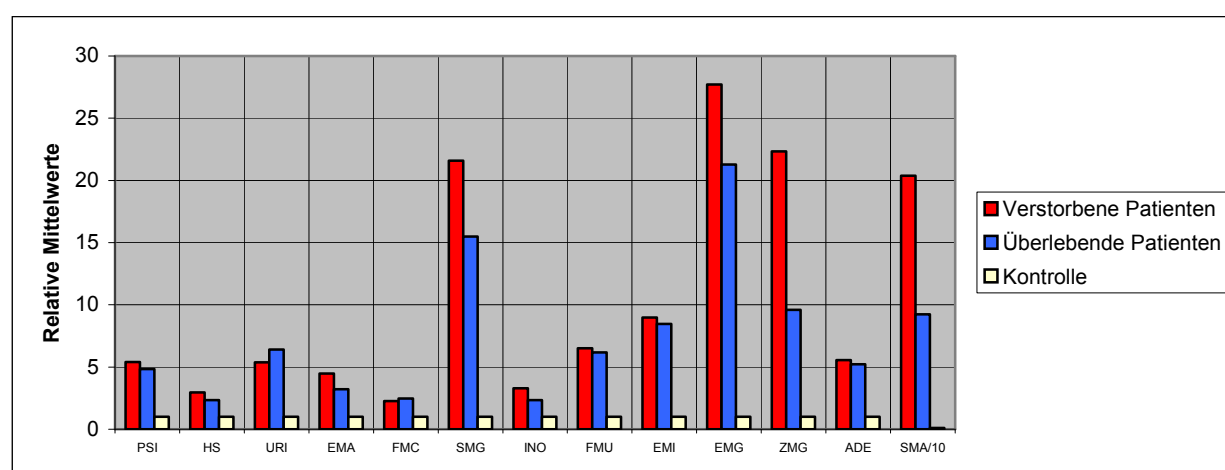


Abb. 40 Relative Mittelwerte der Nukleosidkonzentrationen verstorbener Patienten und überlebender Patienten des gesamten Untersuchungszeitraumes (Klasse 0-14) und der Kontrolle

Als nächstes führten wir die logistische Regression für Werte verstorbener und überlebender Patienten bezogen auf den Zeitraum vom ersten Tag bis zum dritten

Monat postoperativ (Klasse 1-11) gegenüber den Werten der Kontrollgruppe durch. Stark erhöht zeigten sich in dieser Berechnung die Nukleoside FMU, EMI, EMG, ZMG und SMA. Bei den überlebenden Patienten imponierte zusätzlich SMG auffällig (Tab. 16; Tab. 17). Falls die Konzentrationen dieser Nukleoside in den ersten drei Monaten nach der Lungenresektion erhöht waren, deutete das auf ein erhöhtes Sterberisiko innerhalb der ersten fünf Jahre nach der Operation hin.

Die Berechnung der relativen Mittelwerte untermauerte dieses Ergebnis insbesondere für die Nukleoside ZMG, EMG, SMG und SMA (Abb. 41; Tab. 49, s. Anhang). Der Unterschied der Nukleosidkonzentrationen verstorbener und überlebender Patienten für die ersten drei Monate nach der Operation (Klasse 1-11) und der Kontrolle sind zur Verdeutlichung der Ergebnisse graphisch dargestellt (Abb. 41).

	PSI	HS	URI	EMA	FMC	SMG	INO	FMU	EMI	EMG	ZMG	ADE	SMA
p-Niveau	0,320	0,446	0,551	0,7402	0,055	0,1426	0,219	0,0269	0,0045	0,0083	0,0063	0,208	0,03178
Odds Ratio	4,993	3,071	2,698	0,5145	0,013	15,888	0,163	2052,771	1703,901	980,502	13769,67	0,1296	458,828

Tab. 16 Ergebnisse der logistischen Regression für die Fallzahl der verstorbenen Patienten des Zeitraumes der ersten drei postoperativen Monate (Klasse 1-11, n=301) gegenüber der Kontrolle (n=41)

	PSI	HS	URI	EMA	FMC	SMG	INO	FMU	EMI	EMG	ZMG	ADE	SMA
p-Niveau	0,7106	0,768	0,7068	0,661	0,0764	0,0167	0,395	0,0342	0,0054	0,0057	0,0197	0,426	0,0450
Odds Ratio	1,6277	1,462	1,6714	0,525	0,0284	49,6974	0,339	34,9468	110,1881	322,5772	52,4272	0,329	38,5312

Tab. 17 Ergebnisse der logistischen Regression für die Fallzahl der überlebenden Patienten des Zeitraumes der ersten drei postoperativen Monate (Klasse 1-11, n=203) gegenüber der Kontrolle (n=41)

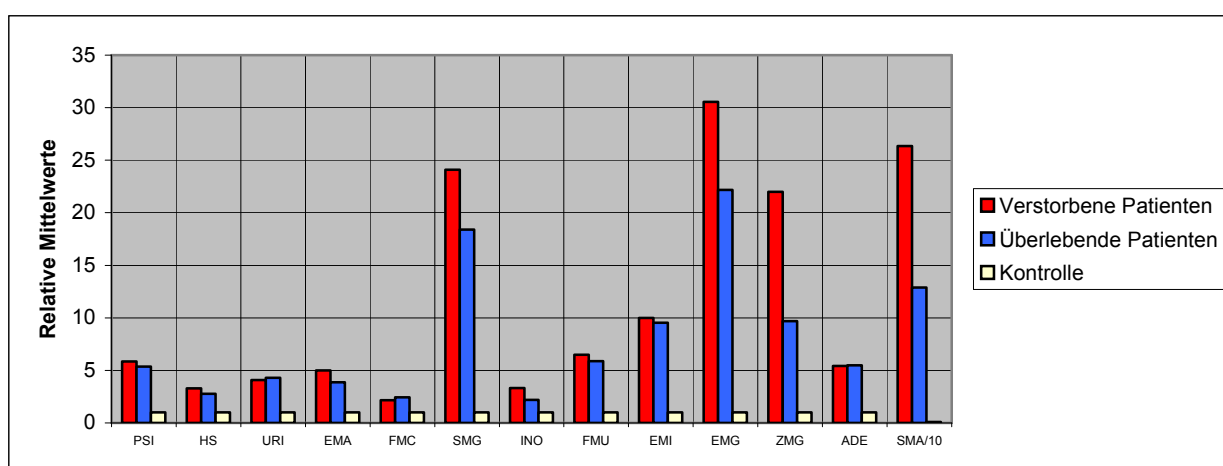


Abb. 41 Relative Mittelwerte der Nukleosidkonzentrationen verstorbener sowie überlebender Patienten für den Zeitraum der ersten drei postoperativen Monate (Klasse 1-11) und der Kontrolle

Die logistische Regression der Nukleosidkonzentrationen der verstorbenen Patienten für den Untersuchungszeitraum ab dem dritten postoperativen Monat (Klasse 12-14) gegenüber der Kontrolle ergab aufgrund der zu geringen Fallzahl kein Ergebnis.

Bei überlebenden Patienten zeigten sich ab dem dritten Monat nach der Operation (Klasse 12-14), nach Ausschluss bestimmter Nukleoside, in der logistischen Regression URI, SMG, FMU und EMI auffällig erhöht (Tab. 18).

	PSI	HS	URI	EMA	FMC	SMG	INO	FMU	EMI	ADE
p-Niveau	0,9724	0,8128	0,0003	0,3699	0,925	0,0003	0,2465	0,0304	0,0025	0,9572
Odds Ratio	0,9663	0,7938	31,8202	2,7561	1,0995	65,7581	0,2606	7,6187	19,2323	0,9525

Tab. 18 Ergebnisse der logistischen Regression für die Fallzahl der überlebenden Patienten (n=92) für den Zeitraum ab dem dritten postoperativen Monat (Klasse 12-14) gegenüber der Kontrolle (n=41)

Die Bestimmung der relativen Mittelwerte aller 12 Nukleoside verstorbener sowie überlebender Patienten für den Zeitraum ab dem dritten postoperativen Monat (Klasse 12-14) wies eine Annäherung für die Nukleosidkonzentrationen der beiden Untergruppen auf. Generell ließ sich eine deutliche Reduktion der Nukleosidkonzentrationen gegenüber dem vorangehenden Zeitraum vor dem dritten Monat nach der Operation feststellen. Stark erhöht zeigte sich ab dem dritten postoperativen Monat erstmals URI, welches neben EMG und SMA den höchsten Wert aufwies (Abb. 42; Tab. 50, s. Anhang).

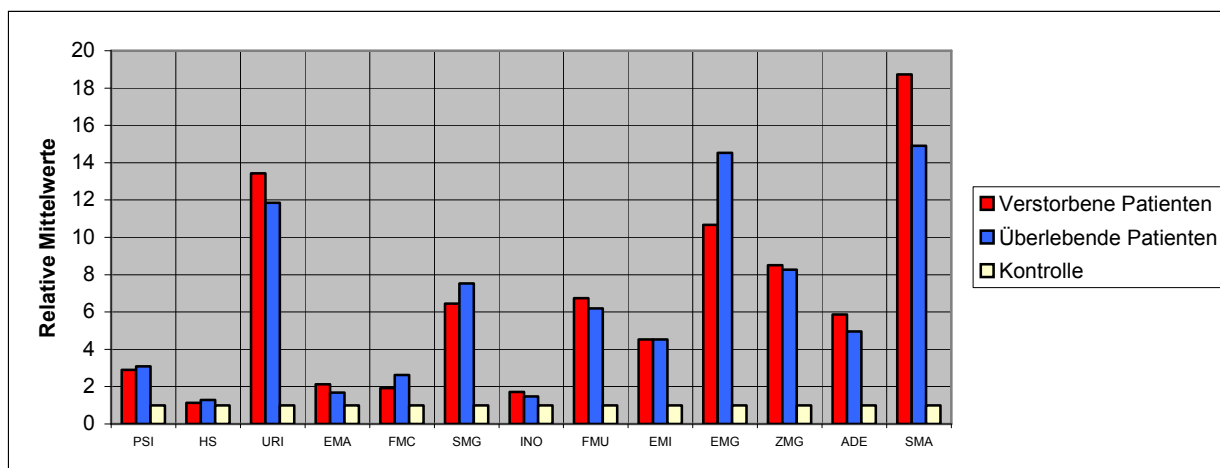


Abb. 42 Relative Mittelwerte der Nukleosidkonzentrationen verstorbener und überlebender Patienten für den Zeitraum ab dem dritten postoperativen Monat (Klasse 12-14) und der Kontrolle

Als letztes führten wir die logistische Regression vergleichend zwischen den verstorbenen Patienten und allen anderen Überlebenden, welche sowohl die Kontrollgruppe als auch die überlebenden Patienten umfasst, durch. Auffällig erschienen HS, EMG und ZMG als Parameter für eine schlechte Prognose mit einem frühzeitigen Sterberisiko unter fünf Jahren nach der

Operation (Tab. 19).

	PSI	HS	URI	EMA	FMC	SMG	INO	FMU	EMI	EMG	ZMG	ADE	SMA
p-Niveau	0,7433	0,0228	0,1670	0,2044	0,6091	0,2854	0,4575	0,2507	0,9446	0,0044	0,0090	0,1623	0,7756
Odds-Ratio	1,1112	1,4787	0,7892	1,2447	1,1001	1,3707	0,8714	1,2614	0,9797	3,3485	2,6719	1,3101	0,9041

Tab 19. Ergebnisse der logistischen Regression für die Fallzahl der verstorbenen Patienten (n=352) gegenüber allen Überlebenden (n=365) für den gesamten Untersuchungszeitraum (Klasse 0-14)

Bei Bestimmung der logistischen Regression für verstorbene Patienten gegenüber der Gruppe Überlebender für den Zeitraum der ersten drei Monate nach der Operation (Klasse 1-11) trat HS als einziges Nukleosid bedeutend erhöht in Erscheinung (Tab. 20)

	PSI	HS	URI	EMA	FMC	SMG	INO	FMU	EMI	EMG	ZMG	ADE	SMA
p-Niveau	0,4372	0,0177	0,2109	0,0841	0,3056	0,2883	0,3281	0,2223	0,1881	0,4534	0,3859	0,1814	0,6835
Odds-Ratio	0,7059	1,6644	0,7688	1,4483	1,2652	1,5078	0,8006	1,3448	0,5776	1,4857	1,5661	1,3823	0,8127

Tab. 20 Ergebnisse der logistischen Regression für die Fallzahl der verstorbenen Patienten (n=203) gegenüber allen Überlebenden (n=268) für den Zeitraum der ersten drei postoperativen Monate (Klasse 1-11)

3.3 Spezifitäten und Sensitivitäten

Des Weiteren führten wir die Berechnung der Spezifität sowie der Sensitivität der einzelnen Nukleoside, bezogen auf die Wahrscheinlichkeit eines frühzeitigen Todes der Lungentumorph Patienten innerhalb von fünf Jahren nach der Operation, durch.

Der Übersichtlichkeit halber wurde auf die Auflistung der für die Bestimmungen der Spezifitäten und Sensitivitäten notwendigen Tafeln verzichtet. In den Tabellen 21 bis 32 sind Wahrscheinlichkeiten für einen Tod der Lungentumorph Patienten innerhalb von fünf Jahren nach Operation dargestellt (0 steht für die Unterschreitung des Normwertes, 1 gibt die Überschreitung des Normwertes der Nukleoside und der Harnsäure wider).

	LT verst.	K	Gesamt	n	LT verst.	K	Gesamt
0	23	26	49	0	0,07	0,63	0,13
1	325	15	340	1	0,93	0,37	0,87
Summen	348	41	389	Summen	1	1	1

Tab. 21 Häufigkeiten und Wahrscheinlichkeiten für einen Tod der Lungentumorph Patienten unter fünf Jahren nach der Operation mit Hilfe von PSI (Spezifität 63%, Sensitivität 93%)

3.3 SPEZIFITÄTEN UND SENSITIVITÄTEN

	LT verst.	K	Gesamt	n	LT verst.	K	Gesamt
0	131	31	162	0	0,39	0,76	0,43
1	202	10	212	1	0,61	0,24	0,57
Summen	333	41	374	Summen	1	1	1

Tab. 22 Häufigkeiten und Wahrscheinlichkeiten für einen Tod der Lungentumorphpatienten unter fünf Jahren nach der Operation mit Hilfe von HS (Spezifität 76%, Sensitivität 61%)

	LT verst.	K	Gesamt	n	LT verst.	K	Gesamt
0	138	36	174	0	0,40	0,88	0,45
1	207	5	212	1	0,60	0,12	0,55
Summen	345	41	386	Summen	1	1	1

Tab. 23 Häufigkeiten und Wahrscheinlichkeiten für einen Tod der Lungentumorphpatienten unter fünf Jahren nach der Operation mit Hilfe von URI (Spezifität 88%, Sensitivität 60%)

	LT verst.	K	Gesamt	n	LT verst.	K	Gesamt
0	123	24	147	0	0,39	0,71	0,42
1	196	10	206	1	0,61	0,29	0,58
Summen	319	34	353	Summen	1	1	1

Tab. 24 Häufigkeiten und Wahrscheinlichkeiten für einen Tod der Lungentumorphpatienten unter fünf Jahren nach der Operation mit Hilfe von EMA (Spezifität 71%, Sensitivität 61%)

	LT verst.	K	Gesamt	n	LT verst.	K	Gesamt
0	24	27	51	0	0,08	0,73	0,15
1	277	10	287	1	0,92	0,27	0,85
Summen	301	37	338	Summen	1	1	1

Tab. 25 Häufigkeiten und Wahrscheinlichkeiten für einen Tod der Lungentumorphpatienten unter fünf Jahren nach der Operation mit Hilfe von SMG (Spezifität 73%, Sensitivität 92%)

	LT verst.	K	Gesamt	n	LT verst.	K	Gesamt
0	149	30	179	0	0,52	0,73	0,55
1	136	11	147	1	0,48	0,27	0,45
Summen	285	41	326	Summen	1	1	1

Tab. 26 Häufigkeiten und Wahrscheinlichkeiten für einen Tod der Lungentumorphpatienten unter fünf Jahren nach der Operation mit Hilfe von INO (Spezifität 73%, Sensitivität 48%)

3. ERGEBNISSE

	LT verst.	K	Gesamt	n	LT verst.	K	Gesamt
0	66	19	85	0	0,20	0,73	0,24
1	261	7	268	1	0,80	0,27	0,76
Summen	327	26	353	Summen	1	1	1

Tab. 27 Häufigkeiten und Wahrscheinlichkeiten für einen Tod der Lungentumorph Patienten unter fünf Jahren nach der Operation mit Hilfe von FMU (Spezifität 73%, Sensitivität 80%)

	LT verst.	K	Gesamt	n	LT verst.	K	Gesamt
0	30	28	58	0	0,09	0,68	0,16
1	303	13	316	1	0,91	0,32	0,84
Summen	333	41	374	Summen	1	1	1

Tab. 28 Häufigkeiten und Wahrscheinlichkeiten für einen Tod der Lungentumorph Patienten unter fünf Jahren nach der Operation mit Hilfe von EMI (Spezifität 68%, Sensitivität 91%)

	LT verst.	K	Gesamt	n	LT verst.	K	Gesamt
0	8	22	30	0	0,03	0,63	0,09
1	293	13	306	1	0,97	0,37	0,91
Summen	301	35	336	Summen	1,00	1	1

Tab. 29 Häufigkeiten und Wahrscheinlichkeiten für einen Tod der Lungentumorph Patienten unter fünf Jahren nach der Operation mit Hilfe von EMG (Spezifität 63%, Sensitivität 97%)

	LT verst.	K	Gesamt	n	LT verst.	K	Gesamt
0	12	29	41	0	0,04	0,73	0,12
1	279	11	290	1	0,96	0,28	0,88
Summen	291	40	331	Summen	1,00	1	1

Tab. 30 Häufigkeiten und Wahrscheinlichkeiten für einen Tod der Lungentumorph Patienten unter fünf Jahren nach der Operation mit Hilfe von ZMG (Spezifität 73%, Sensitivität 96%)

	LT verst.	K	Gesamt	n	LT verst.	K	Gesamt
0	80	24	104	0	0,24	0,65	0,28
1	257	13	270	1	0,76	0,35	0,72
Summen	337	37	374	Summen	1	1	1

Tab. 31 Häufigkeiten und Wahrscheinlichkeiten für einen Tod der Lungentumorph Patienten unter fünf Jahren nach der Operation mit Hilfe von ADE (Spezifität 65%, Sensitivität 76%)

	LT verst.	K	Gesamt	n	LT verst.	K	Gesamt
0	18	24	42	0	0,06	0,75	0,13
1	263	8	271	1	0,94	0,25	0,87
Summen	281	32	313	Summen	1,00	1	1

Tab. 32 Häufigkeiten und Wahrscheinlichkeiten für einen Tod der Lungentumorph Patienten unter fünf Jahren nach der Operation mit Hilfe von SMA (Spezifität 75%, Sensitivität 94%)

In Anlehnung an Ammon A (1990) ist die Voraussetzung für die Nutzung von Tumormarkern in der Diagnostik von Malignomen, dass deren Sensitivität größer als 50% und deren Spezifität größer als 95% ist. Einzeln erreichten wir dies für kein Nukleosid.

ZMG imponierte als eines der aussagekräftigsten Nukleoside und wies eine Spezifität von 73% und eine Sensitivität von 96% auf.

Betrachten wir anschließend die Erkrankungswahrscheinlichkeit eines NSCLC, ausgehend von den präoperativen Werten (Klasse 0), so konnten wir eine Spezifität von 98% und eine Sensitivität von 70% erreichen, falls mindestens vier der folgenden fünf Marker erhöht waren: SMG, EMI, ZMG, EMG, SMA (Tab. 33).

n	LT alle	K	Gesamt	n	LT alle	K	Gesamt
0	0	8	8	0	0,00	0,20	0,08
1	2	19	21	1	0,04	0,46	0,21
2	4	7	11	2	0,07	0,17	0,11
3	11	6	17	3	0,19	0,15	0,17
4	14	1	15	4	0,25	0,02	0,15
5	26	0	26	5	0,46	0,00	0,27
Summen	57	41	98	Summen	1	1	1

Tab. 33 Häufigkeiten und Erkrankungswahrscheinlichkeiten des NSCLC mit Hilfe von fünf renal ausgeschiedenen modifizierten Nukleosiden (SMG, EMI, ZMG, EMG, SMA) zum präoperativen Zeitpunkt (Klasse 0); (Spezifität 98%, Sensitivität 70%)

Nach Spezifizierung unserer Berechnung hinsichtlich der Wahrscheinlichkeit eines frühzeitigen Todes der Lungentumorph Patienten innerhalb von fünf Jahren nach der Operation, zeigte sich für die präoperativ erhöhten Werte derselben vier von fünf Parameter (SMG, EMI, ZMG, EMG, SMA) eine Spezifität von 98% und eine Sensitivität von 77% (Tab. 34).

Des Weiteren bestimmten wir die Sensitivität und Spezifität anhand der Nukleosidkonzentrationen aller Patienten für den Zeitraum ab dem sechsten Monat nach der Operation (Klasse 13-14). Hier konnten wir eine Spezifität von 100% und eine Sensitivität von 77% erreichen, falls drei der folgenden vier Nukleoside in erhöhter Konzentration vorlagen: SMA, URI, EMG und ZMG (Tab. 35).

3. ERGEBNISSE

n	LT verst.	K	Gesamt	n	LT verst.	K	Gesamt
0	0	8	8	0	0	0,20	0,11
1	1	19	20	1	0,03	0,46	0,28
2	3	7	10	2	0,10	0,17	0,14
3	3	6	9	3	0,10	0,15	0,13
4	11	1	12	4	0,35	0,02	0,17
5	13	0	13	5	0,42	0	0,18
Summen	31	41	72	Summen	1	1	1

Tab. 34 Häufigkeiten und Wahrscheinlichkeiten für einen Tod der Lungentumorkranken unter fünf Jahren nach der Operation mit Hilfe von fünf renal ausgeschiedenen modifizierten Nukleosiden (SMG, EMI, EMG, ZMG, SMA) zum präoperativen Zeitpunkt (Klasse 0); (Spezifität 98%, Sensitivität 77%)

n	LT alle	K	Gesamt	n	LT alle	K	Gesamt
0	0	15	15	0	0,00	0,37	0,11
1	6	15	21	1	0,06	0,37	0,15
2	17	11	28	2	0,17	0,27	0,20
3	45	0	45	3	0,45	0,00	0,32
4	31	0	31	4	0,31	0,00	0,22
Summen	99	41	140	Summen	1	1	1

Tab. 35 Häufigkeiten und Wahrscheinlichkeiten für einen Lungentumor mit Hilfe von vier renal ausgeschiedenen modifizierten Nukleosiden (URI, EMG, ZMG, SMA) ab dem sechsten postoperativen Monat (Klasse 13-14); (Spezifität 100%, Sensitivität 77%)

Um noch genauere Aussagen bezüglich der Verlaufskontrolle treffen zu können, betrachteten wir die vier Marker, die bei verstorbenen Patienten im Gegensatz zu überlebenden Patienten ab dem sechsten Monat nach der Operation (Klasse 13-14) wieder anstiegen. Anhand erhöhter Konzentrationen von drei der folgenden vier Marker später verstorbener Patienten: URI, EMG, ZMG, FMU, konnten wir eine Spezifität von 100% und eine Sensitivität von 83% erreichen (Tab. 36).

n	LT verst.	K	Gesamt	n	LT verst.	K	Gesamt
0	1	14	15	0	0,03	0,34	0,20
1	0	18	18	1	0	0,44	0,24
2	5	9	14	2	0,14	0,22	0,18
3	14	0	14	3	0,4	0	0,18
4	15	0	15	4	0,43	0	0,20
Summen	35	41	76	Summen	1	1	1

Tab. 36 Häufigkeiten und Wahrscheinlichkeiten für einen Tod der Lungentumorkranken unter fünf Jahren nach der Operation mit Hilfe von vier renal ausgeschiedenen modifizierten Nukleosiden (URI, EMG, ZMG, FMU) ab dem sechsten postoperativen Monat (Klasse 13-14); (Spezifität 100%, Sensitivität 83%)

4. DISKUSSION

4.1 Eignung modifizierter Nukleoside für die Frühdiagnostik und frühe Prognose des NSCLC

Patienten mit nicht-kleinzelligem Bronchialkarzinom (NSCLC) schieden zum präoperativen Zeitpunkt (Klasse 0) mit dem Urin bedeutend höhere Konzentrationen modifizierter Nukleoside im Vergleich zu gesunden Probanden aus.

Auch wenn bereits diverse Publikationen zu erhöhter Nukleosidausscheidung bei malignen Neoplasien verfasst wurden, ist die Anzahl bezogen auf das Bronchialkarzinom stark begrenzt.

Tamura S et al. (1986) beschrieben stark erhöhte Konzentrationen von PSI im Urin bei Patienten mit NSCLC, allerdings mit kleinerer Fallzahl (30 Probanden) und ausschließlich auf PSI bezogen. Ebenso berücksichtigten Lu JY et al. (1994) in ihren Nukleosidberechnungen bezüglich Lungentumoren nur PSI und Patienten mit kleinzelligem Bronchialkarzinom (SCLC).

Erhöhte Konzentrationen von PSI konnten wir präoperativ (Klasse 0) auch für unsere Patienten mit NSCLC bestätigen. Für die Nukleoside SMG, EMG, ZMG und SMA fanden wir allerdings noch deutlichere Konzentrationserhöhungen verglichen mit unserer Kontrollgruppe. Somit ließen sich die Aussagen von Mackenzie JW et al. (1984) untermauern, die ebenfalls erhöhte Werte für Lungentumorpatienten bei PSI, SMG, EMG und EMA beschrieben, jedoch ohne statistische Bewertung und ohne Unterteilung hinsichtlich SCLC und NSCLC.

Mit Ausnahme von FMC zeigten zum präoperativen Zeitpunkt (Klasse 0) alle unsere 12 Marker einen deutlichen Konzentrationsunterschied gegenüber der Kontrolle, wobei SMG, EMG, ZMG sowie SMA besonders auffallend herausragten.

Ziel unserer Arbeit war es, unter anderem die Eignung von Nukleosiden hinsichtlich der Frühdiagnostik von nicht-kleinzelligen Bronchialkarzinomen (NSCLC) zu bewerten.

Anhand der erheblichen Differenz der Parameter ZMG, SMA, EMG und SMG unserer Patienten (n=65) zur Kontrollgruppe, konnten wir diese als nützliche Marker für die Frühdiagnostik des NSCLC konstatieren.

Um spezifische Marker für Lungentumoren herauszuarbeiten und deren Stellenwert in der Frühdiagnostik noch genauer zu evaluieren, zogen wir einen Vergleich der Nukleosidkonzentrationen zu anderen häufigen Krebsarten wie dem Kolorektalen Karzinom und dem Mammakarzinom. Zu diesen beiden Karzinomtypen ist bereits eine Vielzahl von Publikationen hinsichtlich einer erhöhten renalen Nukleosidausscheidung veröffentlicht worden.

Feng B et al. (2005) beobachteten erhöhte Werte bei PSI, C, EMA, EMG, SMA und einigen in unserer Berechnung nicht gemessenen Nukleosiden, wobei insbesondere für PSI und EMG eine bedeutende Aussage in der Diagnostik von Kolorektalen Karzinomen gesehen wurde.

Dagegen konnten Cho SH et al. (2009) bei Patientinnen mit Mammakarzinom ausschließlich erhöhte Werte für EMA sowie zwei weitere Nukleoside erkennen. Seidel A et al. (2006) bewerteten unter anderem C, EMA, PSI, SMA und EMG bei Patientinnen mit Brustkrebs als Marker mit deutlichem Konzentrationsunterschied gegenüber gesunden Probanden.

Wir konnten die Ergebnisse anderer Autoren vor allem für EMG und SMA bestätigen, welche in unseren Untersuchungen unter allen anderen erhöhten Nukleosiden besonders auffällig erschienen. Insgesamt ließen sich einige Parallelen hinsichtlich diagnostisch aussagekräftiger Nukleoside zwischen unseren Ergebnissen und den Erkenntnissen vorangegangener Studien zu anderen malignen Neoplasien ziehen. Da wir jedoch in der Frühdiagnostik ZMG, das in diesen Publikationen unerwähnt blieb, als bedeutungsvollen Marker des NSCLC bewerteten, könnte man dieses Nukleosid als potentiell lungentumorspezifischen Marker bezeichnen.

Generell ist die Vergleichbarkeit der Arbeiten jedoch zurückhaltend anzusehen. Einerseits bestehen teilweise große Unterschiede in der Fallzahl und andererseits könnten auch methodische Varianzen durch Instabilität der Methodik gegeben sein.

Um Aussagen über die Prognose des NSCLC treffen zu können, selektierten wir unsere Patientendaten bezüglich der 5-Jahres-Überlebensrate im Anschluss an die Operation des Lungentumors. Fünf Jahre nach der Operation und damit der Diagnose Bronchialkarzinom waren noch 43% (n=28) der Patienten am Leben. Bei allen Patientengruppen waren SMG, EMG, ZMG sowie SMA stark erhöht und wiesen einen deutlichen Unterschied gegenüber der Kontrollgruppe auf.

Die innerhalb von fünf Jahren nach der Operation verstorbenen Lungentumorpatienten demonstrierten im Gegensatz zu überlebenden Patienten insbesondere für die ZMG-Konzentration einen enormen Unterschied zur Kontrolle. Auch im direkten Vergleich der ZMG-Ausscheidung zwischen verstorbenen und überlebenden Patienten, ohne Bestimmung signifikanter Unterschiede, waren deutlich höhere ZMG-Level später verstorbener Patienten zu verzeichnen.

Stark erhöhte Konzentrationen von ZMG konnten demzufolge als nützlicher prognostischer Marker des NSCLC und hinweisend auf einen infausten Krankheitsverlauf gewertet werden.

Auch SMG zeigte sich bei später verstorbenen Patienten zum präoperativen Zeitpunkt (Klasse 0) höher als bei überlebenden Patienten, allerdings weniger stark als ZMG.

Die präoperative Konzentration von SMA (Klasse 0) war dagegen bei überlebenden Patienten gegenüber später verstorbenen Patienten deutlich höher, verglichen mit Konzentrationen der Kontrolle. Damit wäre die Annahme möglich, dass dieses Nukleosid in erhöhter Konzentration eine prognostisch günstige Aussagekraft hat. Dies wurde jedoch durch die logistische Regression und überdeutlich durch die Bestimmung der relativen Mittelwerte widerlegt (siehe unten).

Durch präoperativ erhöhte Konzentrationen (Klasse 0) von vier der fünf Marker SMG, EMI, ZMG, EMG und SMA war eine gute Aussage über die Erkrankungswahrscheinlichkeit mit einem NSCLC möglich. Es ließ sich hierbei eine Spezifität von 98% und eine Sensitivität von 70% berechnen. Wir befanden uns damit weit über der von Ammon A (1990) geforderten Spezifität von mehr als 95% und Sensitivität von mehr als 50% als Voraussetzungen für einen guten Tumormarker in der Klinik.

Nutzen wir dieselben Nukleoside (SMG, EMI, EMG, ZMG, SMA) nach Selektion der Patientendaten bezüglich der Überlebensrate, so erhielten wir für unsere später verstorbenen Patienten durch Bestimmung von vier der fünf erhöhten Parameter sogar eine Sensitivität von 77%.

Laut unseren Ergebnissen wiesen die präoperativen Nukleosidkonzentrationen des NSCLC (Klasse 0) eine erhebliche Aussagekraft sowie einen bedeutsamen Nutzen in der Frühdiagnostik und frühen Prognosestellung des NSCLC auf.

4.2 Eignung modifizierter Nukleoside zur Verlaufskontrolle des NSCLC

Nach Bewertung der modifizierten Nukleoside bezüglich ihrer frühdiagnostischen und frühprognostischen Aussage bei Lungentumoren, prüften wir deren Relevanz in der postoperativen Verlaufskontrolle von Patienten mit nicht-kleinzelligem Bronchialkarzinom (NSCLC).

Betrachten wir zunächst unsere gesamte Patientengruppe (n=65), so zeigten alle 12

präoperativ (Klasse 0) erhöhten Nukleoside auch im postoperativen Verlauf (Klasse 1-14) durchgehend eine außerordentliche Differenz zur Kontrolle. Die bereits präoperativ auffälligsten Parameter SMG, EMG, ZMG und SMA imponierten auch im weiteren Verlauf exorbitant erhöht. Wir hatten daher wieder die Möglichkeit, unter allen Markern die besten hervorzuheben und näher zu beschreiben.

Trotz bestehender Wichtigkeit gegenüber der Kontrollgruppe reduzierte sich in den ersten postoperativen Tagen (Klasse 1-2) die Konzentration aller Nukleoside, mit Ausnahme von SMA, zunächst rapide, was sich durch die Resektion des kanzerogenen Lungengewebes erklären ließ. SMA zeigte dagegen unmittelbar postoperativ (Klasse 1-2) einen auffälligen Konzentrationsanstieg.

Der Konzentrationsrückgang der Nukleoside nach umfassender Resektion einer malignen Neoplasie wurde von Cho SH et al. (2009) auch für Patientinnen mit Brustkrebs beobachtet, allerdings, mit Ausnahme von EMA, nur für Nukleoside, die in unseren Ergebnissen nicht berücksichtigt wurden. Der Autor führte dieses Phänomen bereits auf eine Reduktion des oxidativen Stress und eine Normalisierung der tRNA-Turnover-Rate zurück. Gemäß Borek E et al. (1977) liegt in kanzerogenem Gewebe im Gegensatz zu gesundem Gewebe eine erhöhte Aktivität der tRNA-Methyltransferase und damit verbunden eine erhöhte Konzentration der modifizierten Nukleoside in der tRNA vor.

Des Weiteren ließen sich bei allen unseren Patienten für jedes Nukleosid zwei Zeitpunkte erkennen, an denen die Differenz zur Kontrolle am größten war. Dieser Konzentrationsanstieg befand sich einerseits um den siebten bis zehnten postoperativen Tag (Klasse 4-5), was sich durch die physiologische operationsbedingte Entzündungsreaktion erklären ließ. Andererseits erfolgte von dem ersten bis zum dritten postoperativen Monat (Klasse 10-11), voraussichtlich durch die standardmäßig vorgenommene adjuvante Radiotherapie oder durch die in unseren Berechnungen unberücksichtigten Re-Operationen, ein zweiter Konzentrationsanstieg. Exakte Angaben über die weitere therapeutische Behandlung unserer Patienten fehlten uns jedoch, so dass wir diese Tatsache ausschließlich auf den in den Leitlinien empfohlenen Therapieplan des NSCLC zurückführen konnten, an welchem man sich auch im Klinikum St. Georg in Leipzig orientiert.

Erwähnenswert ist im postoperativen Konzentrationsverlauf neben SMG, EMG und ZMG erstmals auch URI, welches zwar unmittelbar postoperativ eher gering erhöht auftrat, jedoch ab dem dritten postoperativen Monat (Klasse 12-14) neben ZMG bei allen Patienten auffällig anstieg.

Nach Selektion unserer Patienten hinsichtlich deren 5-Jahres-Überlebensrate, konnten wir unmittelbar nach der Operation (Klasse 1-2) bei beiden Patientenuntergruppen resektionsbedingt einen starken Konzentrationsrückgang aller Nukleoside, mit Ausnahme von SMA, erkennen. Des

Weiteren beobachteten wir im Verlauf verstorbener sowie überlebender Patienten wiederum die beiden bereits erläuterten Peaks aller Nukleoside (siehe oben).

Zu nennen ist ein um den ersten und zweiten postoperativen Tag (Klasse 1) weitaus stärkerer Anstieg von SMA der später verstorbenen Patienten gegenüber den überlebenden Patienten, obwohl der präoperative Wert (Klasse 0) verstorbener deutlich unter dem der überlebenden Patienten lag.

Ab dem sechsten Monat nach der Operation (Klasse 13-14) ließen sich zwischen verstorbenen und überlebenden Patienten jedoch deutliche Unterschiede hinsichtlich des Nukleosidgehalts erkennen. So imponierten unter später verstorbenen Patienten URI, EMG, ZMG und in geringerem Maße auch FMU mit einem erneuten deutlichen Konzentrationsanstieg ab dem sechsten postoperativen Monat (Klasse 13-14), wohingegen SMG kontinuierlich abnahm. Auch alle anderen Nukleoside zeigten ab dem sechsten Monat eine tendenzielle Zunahme. Bei Patienten mit einer postoperativen Überlebenszeit von mehr als fünf Jahren war dieses Phänomen der erneuten Gehaltszunahme nicht zu erkennen.

Besonders zu betonen ist jedoch der Anstieg der ZMG- und URI-Level bei später verstorbenen gegenüber überlebenden Patienten etwa drei bis sechs Monate nach der Operation des NSCLC (Klasse 12 bzw. 13-14).

Mit dieser Erkenntnis über das Verhalten der Nukleosidkonzentrationen im Krankheitsverlauf ließen sich unsere Aussagen über die Eignung des Parameters ZMG bekräftigen, der bereits präoperativ (Klasse 0) als nützlicher Marker, hinweisend auf eine ungünstige Verlaufsprognose, in Erscheinung trat.

Außerdem erkannten wir, dass neben ZMG auch URI einen infausten Krankheitsverlauf des NSCLC prognostizierte und sich als geeigneter Marker für die Verlaufsbeurteilung des NSCLC erwies.

Mit Hilfe der logistischen Regression für den gesamten Untersuchungszeitraum (Klasse 0-14) verstorbener sowie überlebender Patienten gegenüber der Kontrollgruppe zeigten sich insbesondere FMU, EMI, ZMG und SMA als Parameter für eine ungünstige Prognose. Es war laut unseren Ergebnissen ein erhöhtes Risiko für einen Tod innerhalb von fünf Jahren nach der Operation bzw. der Diagnose Lungentumor gegeben, falls erhöhte Level der oben genannten Marker vorlagen.

Diese Erkenntnisse konnten wir in weiten Teilen auch durch die anschließende Bestimmung der relativen Mittelwerte der Nukleoside für die Gesamtzeit unserer Untersuchungen (Klasse 0-14) bestätigen. Hier wiesen erhöhte Werte von SMG, EMG, ZMG und SMA auf eine ungünstige

Prognose hin, wohingegen vor allem ZMG sowie SMA bei verstorbenen Patienten exorbitant erhöht vorlagen.

Die Fallzahl der präoperativen Nukleosiddaten (Klasse 0) reichte nicht für eine alleinige logistische Regression aus, daher betrachteten wir alle Nukleosidwerte unabhängig vom Zeitpunkt der Entnahme.

In der Bestimmung der relativen Mittelwerte für den Zeitraum ab dem sechsten Monat nach der Operation (Klasse 12-14) trat neben URI und FMU vor allem auch SMA als Marker für einen ungünstigen Verlauf hervor. Erhöhte ZMG-Konzentrationen prognostizierten zwar tendenziell auch einen schlechten Verlauf, allerdings nicht so ausgeprägt wie in vorherigen Ergebnissen beobachtet.

URI ließ sich jedoch als Marker für eine infauste Verlaufsprognose des NSCLC eindeutig bestätigen, da es auch in der logistischen Regression bei später verstorbenen Patienten ab dem dritten Monat nach der Operation (Klasse 12-14) auffällig in Erscheinung trat.

Die logistische Regression zwischen verstorbenen Patienten und allen anderen Überlebenden (Kontrollgruppe und überlebende Patienten) deutete auf HS, EMG und ZMG als Parameter für einen ungünstigen Krankheitsverlauf mit frühzeitigem Sterberisiko unter fünf Jahren nach der Operation hin.

Anhand unserer bisherigen Ergebnisse konnten wir ZMG aber auch URI als bedeutungsvolle Marker in der Verlaufsbeurteilung des NSCLC evaluieren, welche in erhöhter Konzentration eine infauste Prognose mit frühem letalen Verlauf aufzeigten.

Andere Nukleoside waren entweder nicht derartig aussagekräftig erhöht oder wiesen in unseren Untersuchungen differierende Ergebnisse auf. EMG, SMG und SMA demonstrierten beispielsweise unterschiedliche prognostische sowie diagnostische Aussagen und konnten demnach nicht separat als Marker für die Verlaufsbeurteilung des NSCLC genutzt werden.

Einzeln über den gesamten Untersuchungszeitraum (Klasse 0-14) betrachtet, erreichten wir allein für ZMG eine Spezifität von 73% und eine Sensitivität von 96% bezüglich eines frühzeitigen Todes der Lungentumorpatienten innerhalb von fünf Jahren nach der Operation bzw. der Diagnose des NSCLC.

Des Weiteren versuchten wir für die Verlaufsbeurteilung die von Ammon A (1990) für einen guten Tumormarker geforderte Spezifität von mehr als 95% und Sensitivität von mindestens 50% zu erreichen. Für die Werte aller Patienten ab dem sechsten postoperativen Monat (Klasse 13-14) erhielten wir sogar eine Spezifität von 100% und eine Sensitivität von 77%, falls drei der folgenden vier Nukleoside in erhöhter Konzentration vorlagen: SMA, URI, EMG und ZMG.

Da wir allerdings hauptsächlich prüfen wollten, inwieweit Nukleoside für die Verlaufsbeurteilung repräsentativ sind, fokussierten wir unsere Berechnung auf die vier Marker URI, ZMG, EMG, FMU, die bei später verstorbenen Patienten im Gegensatz zu überlebenden Patienten ab dem sechsten Monat nach der Operation (Klasse 13-14) wieder anstiegen und damit einen schlechten Verlauf prognostizierten. Falls drei dieser vier Marker ab dem sechsten postoperativen Monat (Klasse 13-14) in erhöhter Konzentration vorlagen, konnten wir eine Spezifität von 100% und eine Sensitivität von 83% für den Hinweis auf eine ungünstige Prognose des NSCLC erreichen. Wenn die Nukleoside dieser Kombination hohe Werte aufweisen, ist folglich mit einem frühzeitigen Tod an Lungenkrebs innerhalb von fünf Jahren zu rechnen.

4.3 Verlaufsbeobachtung modifizierter Nukleoside bezüglich Operationsverfahren und NSCLC-Subtypen

Um den postoperativen Verlauf der Nukleoside noch genauer zu beleuchten, teilten wir unsere Patientengruppe hinsichtlich ihrer Operationsverfahren sowie ihrer Tumorsubtypen auf, allerdings aufgrund der sonst zu geringen Fallzahl ohne weitere Aufteilung bezüglich der Überlebensrate.

In diesem Abschnitt wird auf den Konzentrationsverlauf unserer bisher aussagekräftigsten Marker, bezogen auf die Operationsverfahren Lobektomie, Pneumektomie und Keil-/Segmentresektion, eingegangen.

Patienten, die eine Keil-/Segmentresektion erhielten, zeigten präoperativ (Klasse 0) deutlich erhöhte ZMG-Werte gegenüber den Patienten, die mit einer Lobektomie oder Pneumektomie operativ versorgt wurden. Im postoperativen Krankheitsverlauf glichen sich die Konzentrationen um den sechsten Monat nach der Operation (Klasse 13) wieder an.

Eine präoperative Erhöhung der ZMG-Konzentration (Klasse 0) für Patienten mit Keil-/Segmentresektion könnte sich damit begründen lassen, dass diese Patienten meist eine Multimorbidität, entweder durch ausgedehnteres Tumorgeschehen oder andere entzündliche Erkrankungen, aufwiesen. Aus diesem Grund, und insbesondere durch eine eingeschränkte Lungenfunktion, kam diese Patientengruppe nur für dieses Operationsverfahren mit geringster Radikalität in Frage. Die 5-Jahres-Überlebensrate der Patienten mit Keil-/Segmentresektion wies mit nur 25% auch den niedrigsten Wert bezüglich der Überlebensrate der einzelnen Operationsverfahren auf.

Die Prüfung auf Unterschiede war aufgrund der geringen Fallzahl nur für Pneumektomie und Lobektomie möglich. Für beide Operationsverfahren zeigten die Nukleoside einen, schon für alle Patienten beschriebenen, vergleichbar erhöhten Konzentrationsverlauf. Bedingt durch eine umfassendere Tumorresektion demonstrierten erwartungsgemäß die postoperativen Nukleosid-Level der Patienten mit Pneumektomie tendenziell eine geringere Erhöhung modifizierter Nukleoside zur Kontrolle als Patienten mit Lobektomie.

Die weitere Unterteilung der Patientendaten nahmen wir bezüglich der Subtypen des NSCLC vor. Mit einer durchschnittlichen 5-Jahres-Überlebensrate von nur 30% wiesen unsere Patienten mit Adenokarzinom eine deutlich höhere Mortalität gegenüber Patienten mit Plattenepithelkarzinom auf, bei welchem nach fünf Jahren noch 50% am Leben waren. Durch diesen Umstand konnten auch Aussagen zur Relevanz der Nukleosidkonzentration in der Frühdiagnostik und Verlaufskontrolle getroffen werden.

Dabei ließen sich unsere bisherigen Erkenntnisse in Bezug auf ZMG als Marker für eine ungünstige Prognose des NSCLC wiederum bestätigen. ZMG-Konzentrationen waren bei Patienten mit Adenokarzinom präoperativ (Klasse 0) erheblich höher als bei Patienten mit Plattenepithelkarzinom.

Beide Karzinomtypen bekundeten für unsere wichtigsten Marker (SMG, EMG, ZMG, SMA, URI) im Verlauf (Klasse 0-14) durchgehend erhöhte Werte gegenüber der Kontrollgruppe.

4.4 Neue Erkenntnisse

4.4.1 Erhöhte ZMG-Konzentrationen als prognostischer Marker

Auffallend als Marker mit prognostisch ungünstiger Verlaufsbeurteilung des NSCLC zeigte sich in unseren Untersuchungen kontinuierlich ZMG. Über eine derartige Bedeutung von ZMG sowohl für das NSCLC als auch für andere maligne Neoplasien konnten wir keine weiteren Veröffentlichungen finden. Wir stellten in allen Untersuchungen fest, dass ZMG bei Patienten mit NSCLC, die innerhalb von fünf Jahren nach der Operation verstarben, insbesondere präoperativ (Klasse 0) und ab dem sechsten postoperativen Monat (Klasse 12-14) in stark erhöhter Konzentration vorlag.

4.4.2 Nukleoside als Tumormarker in der Frühdiagnostik und Verlaufskontrolle des NSCLC

Zwar haben bereits einige Autoren die Bedeutung von modifizierten Nukleosiden für die Diagnostik von Lungentumoren beschrieben, jedoch meist beschränkt auf PSI und auf das SCLC (Lu JY et al. 1994). Einige wenige Veröffentlichungen, die ansatzweise das NSCLC behandelten, wiesen viel zu geringe Fallzahlen auf, um signifikante Unterschiede zu erhalten und repräsentative Aussagen treffen zu können (Mackenzie JW et al. 1984; Tamura S et al. 1986). Obwohl diese Publikationen länger zurückliegen und sich inzwischen die Bestimmungsmethoden geändert haben dürften, wurde die Relevanz modifizierter Nukleoside bei anderen Tumorarten wie dem Mammakarzinom auch in jüngster Zeit aufgezeigt (Seidel A et al. 2006; Cho SH et al. 2009).

Außerdem fanden wir keine Veröffentlichungen, die Nukleoside in der Verlaufskontrolle von malignen Neoplasien über einen so langen Zeitraum beschrieben. Da sich einer Tumoresektion meist eine adjuvante Chemo- und/oder Radiotherapie anschließt, ist es jedoch wichtig, ein ausreichend großes Zeitfenster einzuhalten, um definitive Aussagen über den Stellenwert der Nukleoside in der Verlaufskontrolle zu treffen.

Insbesondere präoperativ (Klasse 0) stark erhöht und damit aussagekräftig in der Frühdiagnostik zeigten sich bei uns SMG, EMG, ZMG und SMA. Mit der nach Gehrke CW und Kuo KC (1989) publizierten Methode konnten wir bei insgesamt 65 Patienten mit NSCLC durch die Bestimmung der präoperativ erhöhten Konzentrationen (Klasse 0) bei vier der fünf Marker SMG, EMI, ZMG, EMG und SMA eine Spezifität von 98% und eine Sensitivität von 70% erreichen. Diese Marker sind folglich für die Frühdiagnostik eines NSCLC anzeigend. Es ist damit eine gute Aussage über die Erkrankungswahrscheinlichkeit eines NSCLC in der Frühdiagnostik möglich.

Einen bedeutenden Stellenwert in der Verlaufsbeurteilung mit Hinweis auf eine infauste Prognose nahmen durch einen erneuten Konzentrationsanstieg ab dem sechsten postoperativen Monat (Klasse 13-14) ZMG und URI ein.

Diese beiden Marker sind als Parameter für die Verlaufsbeurteilung des NSCLC besonders hervorzuheben.

Durch eine Spezifität von 100% sowie einer Sensitivität von 83% für erhöhte Werte von drei der vier Marker ZMG, URI, EMG und FMU ab dem sechsten postoperativen Monat (Klasse 13-14), können wir die Verschlechterung des Gesundheitszustandes und den folgenden Tod an Lungenkrebs aufzeigen.

4.4.3 Unterschiedliche Nukleosidkonzentrationen bei den einzelnen Operationsverfahren und verschiedenen NSCLC-Subtypen

Keine Publikation geht in der Bedeutung modifizierter Nukleoside in der Diagnostik von Lungentumoren auf die einzelnen Operationsverfahren sowie Subtypen des NSCLC ein. In unserer Arbeit wurde dies erstmals aufgegriffen und umfassend diskutiert. Wir konnten dabei unsere Erkenntnisse zu ZMG als geeigneten Marker für eine schlechte Prognose bestätigen.

4.5 Kritische Eigenbetrachtung

Als nächstes folgt eine kritische Betrachtung zum Ablauf der eigenen Untersuchungen und Bewertungen. Verglichen mit publizierten Zahlen anderer Autoren ist die Anzahl unserer Probanden mit nicht-kleinzelligem Lungenkarzinom (NSCLC) trotz der Differenzierung des Lungentumors deutlich höher. Obwohl wir in die Berechnung unserer Patientendaten auch vier Patienten mit einer benignen Neoplasie des Lungengewebes aufgenommen haben, sprechen wir durch die verschwindend geringe Anzahl dieser dennoch insgesamt von einem NSCLC. Auch wenn die Fallzahlen zu wünschen übrig lassen, konnten die Ergebnisse statistisch bewertet werden.

Es wäre jedoch sinnvoll, unsere Erkenntnisse bei anderen Tumorerkrankungen ohne spezifische Marker, wie Lymphomen oder Hauttumoren, nochmals mit einer größeren Patientengruppe und über einen noch längeren Zeitraum zu bestätigen.

Eine weitere Neuheit, welche erstmals in unserer Studie behandelt wurde, war die Bewertung der Nukleosidkonzentration im Verlauf der Lungentumorerkrankung unter Berücksichtigung der Operationsverfahren und der Subtypen des NSCLC.

Im Rahmen unserer Studie war es uns möglich, fast durchgehend Morgen-Urin der Patienten zu erhalten, wodurch sich eine Verfälschung der Nukleosidkonzentrationen durch die unterschiedliche Nahrungsaufnahme stark reduzieren ließ. Um Störfaktoren der renal ausgeschiedenen Nukleosidkonzentrationen wie unterschiedliche Muskelmasse, differierende Nierenfunktionsleistung und ungleich aufgenommene Flüssigkeitsmengen zu minimieren, bezogen wir die Nukleoside auf das ebenfalls bestimmte Kreatinin.

Potentielle Zweitneoplasien, Re-Operationen sowie chronisch entzündliche Erkrankungen der Patienten blieben in unserer Untersuchung unberücksichtigt. Dadurch könnten die

Nukleosidkonzentrationen jedoch zusätzlich beeinflusst werden und falsch-negative bzw. falsch-positive Ergebnisse resultieren.

Es bietet sich an, eine umfassende Nachsorge der Patienten in der Tumorsprechstunde durch das Universitätsklinikum oder bestimmte größere städtische Kliniken wie das Klinikum St. Georg zu gewährleisten, welche unmittelbar an ein Laboratorium zur Bestimmung der Urinproben hinsichtlich modifizierter Nukleoside angeschlossen sind. Allerdings sind diesbezüglich weitere Forschungsarbeiten erforderlich, um modifizierte Nukleoside in die klinische Praxis einzuführen. Eine limitierende Rolle in der Bestimmung der Nukleosidkonzentration durch HPLC spielt immer noch der beträchtliche Zeit- und Probenaufbereitungsaufwand. Um diese Faktoren zu reduzieren und modifizierte Nukleoside für die Frühdiagnostik und Verlaufskontrolle des NSCLC routinetauglich zu gestalten, müsste eine noch schnellere und automatisiertere Methode gefunden werden.

Modifizierte Nukleoside erwiesen sich in unseren Untersuchungen als äußerst günstig in ihrer Funktion als neue Tumormarker für die Frühdiagnostik, Tumorverlaufskontrolle sowie zur Abschätzung der Prognose des NSCLC.

Als Langzeitziel sollte die Entwicklung von Biomarker-Systemen zur Tumorfrühdiagnostik basierend auf bioinformatischer Nukleosidmustererkennung angestrebt werden.

4.6 Schlussfolgerung

Unsere Untersuchungen zeigten neben einer deutlichen Relevanz in der Tumordiagnostik des NSCLC auch eine Bedeutung modifizierter Nukleoside in der Überwachung des Therapieverlaufes und in der Prognose der Lungentumorerkrankung.

Vor allem durch die Kombination der in unseren Untersuchungen bedeutsamsten Nukleoside konnten wir repräsentative Aussagen mit ausreichender Sensitivität und Spezifität machen.

Da das Bronchialkarzinom die häufigste Todesursache maligner Neoplasien beim Mann darstellt und auch die Mortalität an Lungenkrebs unter Frauen deutlich zunimmt, ist es meines Erachtens von großer Bedeutung, die Relevanz unserer Erkenntnisse in weiteren Studien umfassender zu prüfen. Möglicherweise ist es notwendig, mit größeren Fallzahlen eine prospektive Studie über einen noch ausgedehnteren Zeitraum durchzuführen.

Es wäre außerdem sinnvoll, mit einer zweiten Methode, wie der Biopsie oder dem Röntgen,

die mit Hilfe der Nukleosidkonzentration gewonnenen Erkenntnisse zu bestätigen.

Bedeutend könnte, im Rahmen einer weiteren Studie, auch ein Vergleich zwischen erhöhten Nukleosidwerten beim NSCLC und dem Verhalten konventioneller Tumormarker in der Frühdiagnostik und Verlaufskontrolle angesehen werden.

Des Weiteren würde eine Kombination aus der Nukleosidbestimmung und neuen Methoden wie der Autofluoreszenzbronchoskopie einen interessanten Forschungsansatz hinsichtlich ihrer additiven diagnostischen Aussagekraft darstellen.

In der Verlaufskontrolle zeigte sich ein deutlicher Nutzen der modifizierten Nukleoside, um eine Tendenz für die weitere Prognose des Lungentumors zu erhalten und das Ansprechen des bisherigen Therapieansatzes abschätzen zu können. Dies ist vor allem wichtig, um rechtzeitig das Therapiekonzept abzuändern und eventuell entsprechend zu intensivieren.

Zur Bestimmung der modifizierten Nukleoside ist die Abnahme des Morgen-Urins ausreichend und bedarf dementsprechend keinem invasiven Vorgehen am Patienten. So lange sich der Patient noch in der Klinik befindet oder sich morgens zur ambulanten Verlaufskontrolle vorstellt, ist die Gewinnung des Morgen-Urins problemlos möglich und kann anschließend zur Untersuchung in ein entsprechendes Labor geschickt werden. Durch die fehlende Invasivität wird diese Untersuchung höchstwahrscheinlich auch bei Patienten besser akzeptiert.

5. ZUSAMMENFASSUNG DER ARBEIT

Dissertation zur Erlangung des akademischen Grades Dr. med.

Untersuchung zur Eignung renal ausgeschiedener modifizierter Nukleoside in der Frühdiagnostik und in der Verlaufskontrolle von nicht-kleinzelligen Bronchialkarzinomen

Eingereicht von Heidi Elisabeth Pastaschek

Angefertigt am Institut für Umweltmedizin und Hygiene, Universität Leipzig

Betreut von: Prof. Dr. Olf Herbarth
Dr. Annerose Seidel

Leipzig im November 2009

Schon seit längerer Zeit ist bekannt, dass Patienten mit malignen Neoplasien signifikant höhere Konzentrationen modifizierter Nukleoside ausscheiden (Borek E et al. 1977; Rasmuson T und Björk GR 1995; Feng B et al. 2005; Mao Y et al. 2007). Für Lungentumoren wurde dies bereits von einigen Autoren beschrieben (Mackenzie JW et al. 1984; Tamura S et al. 1986), jedoch bisher nicht mit einer größeren Patientenanzahl und ohne Differenzierung des Lungentumors.

Ziel unserer Arbeit war es, die modifizierten Nukleoside in der Frühdiagnostik und Verlaufskontrolle von nicht-kleinzelligen Lungentumoren (NSCLC) zu untersuchen und ihre Eignung zu evaluieren.

Als Kontrollgruppe dienten uns 41 klinisch gesunde Studenten sowie Blutspender, in deren Morgen-Urin wir 13 modifizierte und unmodifizierte Nukleoside untersuchten. Aus diesen bestimmten wir anschließend institutsinterne Normwerte der Nukleosidausscheidung. Diese renal eliminierten Nukleoside verglichen wir mit Nukleosiden im Morgen-Urin von 65 Patienten mit nicht-kleinzelligem Bronchialkarzinom (NSCLC) des Städtischen Klinikums St. Georg Leipzig, Abteilung für Thoraxchirurgie. Die Patienten wurden dort im Rahmen ihrer Tumorerkrankung operiert. Von den Patienten hatten 34 ein Plattenepithelkarzinom, 27 ein Adenokarzinom und vier Patienten eine benigne Neoplasie des Lungengewebes. Zur operativen Behandlung des Lungentumors erhielten die Patienten entweder eine Lobektomie, Bilobektomie, Pneumektomie oder Keil-/Segmentresektion. Um eine Aussage über die Relevanz der Nukleoside in der Frühdiagnostik und der Verlaufsbeurteilung zu erhalten, wurden Urinproben der Lungentumorpatienten präoperativ (Klasse 0) und zu jeweils festgelegten Zeitpunkten ab dem ersten Tag bis nach dem neunten Monat des postoperativen Untersuchungszeitraumes (Klasse 1-14) bestimmt.

Zur Minimierung individuell bedingter, karzinomunabhängiger Differenzen der Nierenfunktion und unterschiedlich ausgeprägter Muskelmasse, bezogen wir die ausgewerteten Nukleosidkonzentrationen auf das ebenfalls gemessene Kreatinin im Urin der Patienten.

Die renal ausgeschiedenen Nukleoside wurden mittels der Hochdruckflüssigkeitschromatographie (HPLC) ermittelt.

Wir konnten feststellen, dass Patienten mit nicht-kleinzelligem Bronchialkarzinom (NSCLC) präoperativ (Klasse 0) verglichen mit der Kontrolle stark erhöhte Konzentrationen von 12 der 13 Nukleoside (ausgenommen FMC) ausschieden.

Besonders aussagekräftig zeigten sich SMG, EMG, ZMG und SMA und erwiesen sich dadurch als geeignete Marker in der Frühdiagnostik des NSCLC.

Im nächsten Schritt prüften wir die Relevanz der Nukleoside für die Verlaufskontrolle des NSCLC.

Obwohl die 12 Nukleoside auch im gesamten postoperativen Untersuchungszeitraum (Klasse 1-14) deutlich erhöht vorlagen, stellten sich ZMG und URI als bedeutungsvollste Marker für die Verlaufsbeurteilung des NSCLC heraus.

Ab dem sechsten postoperativen Monat (Klasse 13-14) demonstrierten ZMG und URI bei später verstorbenen im Gegensatz zu überlebenden Patienten eine erhebliche Konzentrationszunahme. Des Weiteren beobachteten wir für das Adenokarzinom mit deutlich

höherer 5-Jahres-Mortalitätsrate einen stetigen Anstieg der URI-Konzentration ab dem neunten postoperativen Monat (Klasse 14).

ZMG und URI imponierten als nützliche Parameter zur Verlaufsbeurteilung des NSCLC, wobei sie einen infausten Krankheitsverlauf mit frühzeitigem Tod anzeigten.

Um eine genauere Prognose stellen zu können, untersuchten wir die präoperativen Werte (Klasse 0) der verstorbenen und überlebenden Patienten. Dabei konstatierten wir bei später verstorbenen gegenüber überlebenden Patienten dreifach höhere ZMG-Werte. Zudem konnten wir präoperativ (Klasse 0) für das Adenokarzinom mit höherer Sterberate fast doppelt so hohe ZMG-Level wie für das Plattenepithelkarzinom feststellen.

ZMG erwies sich demnach präoperativ (Klasse 0) als geeigneter prognostischer Marker des NSCLC und hinweisend auf einen ungünstigen, frühzeitig letalen Verlauf.

Mit Hilfe der logistischen Regression und der Bestimmung der relativen Mittelwerte sowohl für den gesamten Untersuchungszeitraum (Klasse 0-14) als auch für den Zeitraum ab dem dritten postoperativen Monat (Klasse 12-14), konnten die Aussagen zu ZMG und URI als nützliche Marker für eine schlechte Prognose mit frühem Krebstod bestätigt werden.

Unter der Festlegung, dass vier der fünf Nukleoside SMG, EMG, EMI, ZMG und SMA präoperativ (Klasse 0) in erhöhter Konzentration vorlagen, war eine Spezifität von 98% und eine Sensitivität der Methode von 70% vorhanden. Es konnte dementsprechend hinsichtlich der Frühdiagnostik eine gute Aussage über die Wahrscheinlichkeit, an einem NSCLC erkrankt zu sein, getroffen werden.

Für den gesamten Untersuchungszeitraum (Klasse 0-14) erreichten wir für ZMG allein eine Spezifität von 73% und eine Sensitivität von 96%.

Um jedoch die von Ammon A (1990) geforderten Werte für einen guten Tumormarker zu erreichen, mussten wir drei der vier Marker (URI, EMG, ZMG, FMU), die in der Gruppe der später verstorbenen Patienten ab dem sechsten postoperativen Monat (Klasse 13-14) in erhöhter Konzentration vorlagen, kombinieren. Damit konnten wir eine Spezifität von 100% und eine Sensitivität von 83% erhalten und somit einen relativ sicheren Hinweis für die Wahrscheinlichkeit eines frühzeitigen Lungenkrebstodes innerhalb von fünf Jahren nach der Operation geben.

Es konnte dargelegt werden, dass Nukleoside in der Frühdiagnostik und in der Verlaufskontrolle von Lungentumoren bedeutende Marker darstellen. Auch wenn ZMG und URI konstant als Parameter für eine schlechte Prognose des NSCLC auftraten und eine besondere Bedeutung für die Verlaufsbeurteilung und die Prognose zeigten, sind diese Marker einzeln betrachtet nicht zur Diagnostik und Verlaufskontrolle des NSCLC geeignet. Anhand der

Kombination von ZMG mit weiteren aussagekräftigen Nukleosiden erhielten wir jedoch Parameter, die sowohl zur Früherkennung, zur Verlaufskontrolle und zur Prognose aussagefähig waren.

Anhand unserer Ergebnisse konnte die Eignung des Nachweises modifizierter Nukleoside im Morgen-Urin von Lungentumorpatienten eindeutig sowohl für die Frühdiagnostik als auch für die Verlaufskontrolle von nicht-kleinzelligen Bronchialkarzinomen (NSCLC) gezeigt werden.

Wir konnten feststellen, dass modifizierte Nukleoside für die Frühdiagnostik, Verlaufskontrolle und Prognose des NSCLC eingesetzt werden können.

Zur Anwendung als Routineverfahren ist die Methode jedoch zeitlich zu optimieren.

6. LITERATURVERZEICHNIS

1. Albain KS, Crowley JJ, LeBlanc M, Livingston RB. Determinants of improved outcome in small cell lung cancer: an analysis of the 2580 patients Southwest Oncology Group data base. *J Clin Oncol* 1990; 19: 1734-1742.
2. Ammon A. Humore Tumormarker. Editiones 'Roche' Basel, 1990.
3. Arriagada R, Bergman B, Dunant A, Le Chevalier T, Pignon JP, Vansteenkiste J. International Adjuvant Lung Cancer Trial Collaborative Group: Cisplatin-based adjuvant chemotherapy in patients with completely resected non-small-cell lung cancer. *N Engl J Med* 2004; 350 (4): 351-360.
4. Baldwin SA, Beal PR, Yao SY, King AE, Cass CE, Young JD. The equilibrative nucleoside transporter family, SLC29. *Pfluegers Archiv* 2004 Feb;447 (5): 735-743.
5. Barthel D, Froberg J, Hentschel B, Hermann G, Klöss M, Kunert M, Schuster E, Wicklein B. Repetitorium Medizinische Biometrie. Universität Leipzig 1995.
6. Bittmann I, Müller-Höcker J. Pathomorphologie der Lungenkarzinome. Manual der Lunge und des Mediastinums. Tumorzentrum München, W. Zuckerswerdt Verlag 2006: 56-65.
7. Björk GR, Ericson JU, Gustafsson CE, Hagervall TG, Jönsson YH, Wikström PM. Transfer RNA modification. *Annu Rev Biochem.* 1987; 56 :263-287.
8. Boffetta P, Agudo A, Ahrens W, Benhamou E, Benhamou S, Darby SC, Ferro G, Fortes C, Gonzalez CA, Jöckel KH, Krauss M, Kreienbrock L, Kreuzer M, Mendes A, Merletti F, Nyberg F, Pershagen G, Pohlabeln H, Riboli E, Schmid G, Simonato L, Trédaniel J, Whitley E, Wichmann HE, Winck C, Zambon P, Saracci R. Multicenter case-control study of exposure to environmental tobacco smoke and lung cancer in Europe. *J Natl Cancer Inst* 1998 Oct 7; 90 (19): 1440-1450.

9. Borek E. Transfer RNA and transfer RNA modification in differentiation and neoplasia. Introduction. *Cancer Res.* 1971 May; 31 (5): 596-597.
10. Borek E. Toward a universal tumour marker. *Tumour Biol.* 1984; 5 (1): 1-14.
11. Borek E, Baliga BS, Gehrke CW, Kuo CW, Belman S, Troll W, Waalkes TP. High turnover rate of transfer RNA in tumor tissue. *Cancer Res.* 1977 Sep; 37 (9): 3362-3366 .
12. Breathnach OS, Freidlin B, Conley B, Green MR, Johnson DH, Gandara DR, O'Connell M, Shepherd FA, Johnson BE. Twenty-two years of phase III-trials for patients with advanced non-small-cell lung cancer: sobering results. *J Clin Oncol* 2001; 19: 1734-1742.
13. Buccheri G, Ferrigno D. Lung cancer: Clinical presentation and specialist referral time. *Eur Respir J* 2004; 24: 898-904.
14. Cho SH, Choi MH, Lee WY, Chung BC. Evaluation of urinary nucleosides in breast cancer patients before and after tumor removal. *Clin Biochem.* 2009 Apr; 42 (6): 540-543.
15. Damhuis RAM, Schütte PR. Resection rates and postoperative mortality in 7,899 patients with lung cancer. *Eur Respir J* 1996 (9): 7-10.
16. Darby S, Hill D, Auvinen A, Barros-Dios JM, Baysson H, Bochicchio F, Deo H, Falk R, Forastiere F, Hakama M, Heid I, Kreienbrock L, Kreuzer M, Lagarde F, Mäkeläinen I, Muirhead C, Oberaigner W, Pershagen G, Ruano-Ravina A, Ruosteenoja E, Rosario AS, Tirmarche M, Tomásek L, Whitley E, Wichmann HE, Doll R. Radon in homes and risk of lung-cancer. Collaborative analysis of individual data from 13 European case-control studies. *BMJ* 2005 Jan 29; 330 (7485): 223.
17. Dieterle F, Müller-Hagedorn S, Liebich HM, Gauglitz G. Urinary nucleosides as potential tumor markers evaluated by learning vector quantization. *Artif Intell Med.* 2003 Jul; 28 (3): 265-279.
18. Drings P. Nicht-kleinzelliges Lungenkarzinom C1b. Aktuelle Leitlinien. 2004. http://www.krebsgesellschaft.de/download/ll_c_01b.pdf
19. Feng B, Zheng MH, Zheng YF, Lu AG, Li JW, Wang ML, Ma JJ, Xu GW, Liu BY, Zhu ZG. Normal and modified urinary nucleosides represent novel biomarkers for colorectal cancer diagnosis and surgery monitoring. *J Gastroenterol Hepatol.* 2005 Dec; 20 (12): 1913-1919.

20. Fischbein A, Sharma OK, Solomon S, Buschman F, Apell G, Kohn M, Selikoff IJ, Bekesi JG, Borek E. Transfer RNA breakdown products in the urine of asbestos workers. *Cancer Detect Prev.* 1984; 7 (4): 247-252.
21. Gehrke CW, Kuo KC. Ribonucleoside analysis by reverse-phase high-performance-liquid-chromatography. In *Chromatography and modification of nucleosides, Part A* eds. Gehrke & Kuo. 1989; 471: 3-36.
22. Gehrke CW, Kuo KC. Modified nucleosides in cancer and normal metabolism, methods and applications. In *Chromatography and modification of nucleosides, Part C* eds. Gehrke & Kuo. 1990a.
23. Gehrke CW, Kuo KC. A chromatography and modification of nucleosides part comprehensive for tRNA and nucleosides-HPLC, GC, MS, UV and FT-IR. In *Chromatography and modification of nucleosides, Part D* eds. Gehrke & Kuo. 1990b.
24. Gehrke CW, Kuo KC, Waalkes TP, Borek E. Patterns of urinary excretion of modified nucleosides. *Cancer Res.* 1979 Apr; 39 (4): 1150-1153.
25. Green CJ, Kammen HO, Penhoet EE. Purification and properties of a mammalian tRNA pseudouridine synthase. *J Biol Chem.* 1982 Mar 25; 257 (6): 3045-3052.
26. Grosjean H, Goodenough-Lashua D. Mechanisms of RNA-Modifying and – Editing Enzymes. In: Grosjean H, Benne R, (eds): *Modification and Editing of RNA*. American Society for Microbiology Washington; DC; 1998, pp 135-168.
27. Hauck RW, Behr J, Eibel R, Engelke C, Gallenberger S, Häußinger KE, Heuck A, Huber R, Spiethoff T., Weber W, Zimmermann F. Diagnostik des Bronchialkarzinoms. In: *Manual Tumoren der Lunge und des Mediastinums*. München: Zuckerschwerdt Verlag, 2003: 6-27.
28. Häußinger K, Kohlhäufel M. Epidemiologie und Diagnostik des Lungenkarzinoms-Teil 1. *Pneumologie* 2005 Aug; 59 (8): 534-548.
29. Heldman DA, Grever MR, Speicher CE, Trewyn RW. Urinary excretion of modified nucleosides in chronic myelogenous leukemia. *J Lab Clin Med.* 1983b May; 101 (5): 783-792.
30. Heldman DA, Grever MR, Trewyn RW. Differential excretion of modified nucleosides in

- adult acute leukemia. *Blood*. 1983a Feb; 61 (2): 291-296.
31. Holstege A, Pauw M, Häring R, Kirchner R, Pausch J, Gerok W. Value of increased urinary excretion of modified nucleosides as tumor markers in colon cancer. *Verh Dtsch Ges Inn Med*. 1986.
 32. Itho K, Aida S; Ishiwata S, Sasaki S, Ishida N, Mizugaki M. Urinary excretion patterns of modified nucleosides, pseudouridine and 1-methyladenosine, in healthy individuals. *Clin Chim Acta* 1993; 217: 221-223.
 33. Itoh K, Konno T, Sasaki T, Ishiwata S, Ishida N, Misugaki M. Relationship of urinary pseudouridine and 1-methyladenosine to activity of leukemia and lymphoma. *Clin Chim Acta*. 1992 Mar 31; 206 (3): 181-189.
 34. Jaakala MS. Environment tobacco smoke and respiratory disease. *Eur Respir Mon* 2000; 15: 322-383.
 35. Jemal A, Siegel R, Ward E, Hao Y, Xu J, Murray T, Thun MJ. Cancer Statistics, 2008. *CA Cancer J Clin* 2008; 58: 71-96.
 36. Jöckel KH. Gesundheitsrisiken durch Passivrauchen. *Deutsches Ärzteblatt* 2000; 43: 2417-2422.
 37. Keith JM, Winters EM, Moss B. Purification and characterization of a HeLa cell transfer RNA(cytosine-5-)-methyltransferase. *J Biol Chem*. 1980 May 25; 255 (10): 4636-4644.
 38. Klinik für Thoraxchirurgie. Klinikum St. Georg Leipzig. Bronchialkarzinom–Chiurgische Therapie. <http://www.sanktgeorg.de/bronchialkarzinom.html>.
 39. Lebanony D, Benjamin H, Gilad S, Ezagouri M, Dov A, Ashkenazi K, Gefen N, Izraeli S, Rechavi G, Pass H, Nonaka D, Li J, Spector Y, Rosenfeld N, Chajut A, Cohen D, Aharonov R, Mansukhani M. Diagnostic assay based on hsa-miR-205 expression distinguishes squamous from nonsquamous non-small-cell lung carcinoma. *J Clin Oncol*. 2009 Apr 20;27 (12): 2030-2037.
 40. Levi F, Lucchini F, Negri E, La Vecchia C. Worldwide patterns of cancer mortality, 1990-1994. *Eur J Cancer Prev*. 1999 Oct; 8 (5): 381-400.

41. Limbach PA, Crain PF, McCloskey JA. Summary: the modified nucleosides of RNA. *Nucleic Acids Res.* 1994 Jun 25; 22 (12): 2183-2196.
42. Lodish H, Berk A, Zipursky SL, Matsudaira P, Baltimore D, Darnell J. *Molekulare Zellbiologie*. 4. Auflage. Spektrum Akademischer Verlag 2001. S. 126-146.
43. Lu JY, Lai RS, Liang LL, Wang HC, Lin TI. Evaluation of urinary pseudouridine as a tumor marker in lung cancer. *J Formos Med Assoc.* 1994 Jan; 93 (1): 25-29.
44. Mackenzie JW, Lewis RJ, Sisler GE, Lin W, Rogers J, Clark I. Urinary catabolites of ribonucleic acid as cancer markers: a preliminary report of their use in patients with lung cancer. *Ann Thorac Surg.* 1984 Aug; 38 (2): 133-139.
45. Mao Y, Zhao X, Wang S, Cheng Y. Urinary nucleosides based potential biomarker selection by support vector machine for bladder cancer recognition. *Anal Chim Acta.* 2007 Aug 13; 598 (1): 34-40. Epub 2007 Jul 21.
46. Marvel CC, Del Rowe J, Bremer EG, Moskal JR. Altered RNA turnover in carcinogenesis. The diagnostic potential of modified base excretion. *Mol Chem Neuropathol.* 1994 Feb-Apr; 21 (2-3): 353-368.
47. Masuda M, Nishihira T, Itoh K, Mizugaki M, Ishida N, Mori S. An immunohistochemical analysis for cancer of the esophagus using monoclonal antibodies specific for modified nucleosides. *Cancer.* 1993 Dec 15; 72 (12): 3571-3578.
48. McCloskey JA, Crain PF. The RNA modification database-1998. *Nucleic Acids Res.* 1998 Jan 1; 26 (1): 196-197.
49. Melton DA, De Robertis EM, Cortese R. Order and intracellular location of the events involved in the maturation of a spliced tRNA. *Nature.* 1980 Mar 13; 284 (5752): 143-148.
50. Mountain CF. Revisions in international system for staging lung cancer. *Chest* 1997; 111: 1710-1717.
51. Müller-Höcker G. *Tumoren der Lunge und des Mediastinums*. Tumorzentrum München. München, W. Zuckschwerdt Verlag 2003.
52. Nakano K, Yasaka T, Nakao T, Schram KH, Hammargren WM. Analysis, identification and

- p>determination of urinary modified nucleosides of cancer and AIDS patients.
- Nucleic Acids Symp Ser.*
- 1990; (22): 31-32.
53. Oji Y, Kitamura Y, Kamino E, Kitano A, Sawabata N, Inoue M, Mori M, Nakatsuka S, Sakaguchi N, Miyazaki K, Nakamura M, Fukuda I, Nakamura J, Tatsumi N, Takakuwa T, Nishida S, Shirakata T, Hosen N, Tsuboi A, Nezu R, Maeda H, Oka Y, Kawase I, Aozasa K, Okumura M, Miyoshi S, Sugiyama H. WT1 IgG antibody for early detection of nonsmall cell lung cancer and as its prognostic factor. *Int J Cancer.* 2009 Jul 15; 125 (2): 381-387.
 54. Osterlind K. Chemotherapy in small cell lung cancer. *Eur Respir Mon* 1995; 1: 306-331.
 55. Peto J, Hodgson JT, Matthews FE, Jones JR. Continuing increase in mesothelioma mortality in Britain. *Lancet.* 1995 Mar 4; 345 (8949): 535-539.
 56. Pope CA, Burnett RT, Thun MJ, Calle EE, Krewski D, Ito K, Thurston GD, Thun MJ. Lung cancer, cardiopulmonary mortality and long-term exposure to fine particulate air pollution. *J Am Med Assoc.* 2002; 287: 1132-1141.
 57. Popp W, Brüning T, Straif K. Krebserkrankungen durch den Beruf. *Deutsches Ärzteblatt* 2003 Jan 6; Jg. 100; Heft 1-2.
 58. Prankel BH, Clemens PC, Burmester JG. Urinary excretion of nucleosides varies with age and protein metabolism. *Clin Chim Acta* 1995 Jan 31; 234 (1-2): 181-183.
 59. Rasmuson T, Björk GR. Urinary excretion of pseudouridine and prognosis of patients with malignant lymphoma. *Acta Oncol.* 1995; 34 (1): 61-67.
 60. Ravdin PM, Clark GM. A practical application of neural network analysis for predicting outcome of individual breast cancer patients. *Breast Cancer Res Treat.* 1992; 22 (3): 285-293.
 61. Salvatore F, Colonna A, Costanzo F, Russo T, Esposito F, Cimino F. Modified nucleosides in body fluids of tumor-bearing patients. *Recent Results Cancer Res.* 1983; 84: 360-377.
 62. Sander G, Hülsemann J, Topp H, Heller-Schöch G, Schöch G. Protein and RNA turnover in preterm infants and adults: a comparison based on urinary excretion of 3-methylhistidine and of modified one-way RNA catabolites. *Ann Nutr Metab.* 1986a; 30 (2): 137-142.

63. Sander G, Topp H, Heller-Schöch G, Wieland J, Schöch G. Ribonucleic acid turnover in man: RNA catabolites in urine as measure for the metabolism of each of the three major species of RNA. *Clin Sci (Lond)*. 1986b Oct; 71 (4): 367-374.
64. Sasco AJ, Rey F, Reynaud C, Bobin JY, Clavel M, Niveleau A. Breast cancer prognostic significance of some modified urinary nucleosides. *Cancer Lett*. 1996 Nov 29; 108 (2): 157-162.
65. Sato M, Sakurada A, Sagawa M, Minowa M, Takahashi H, Oyaizu T, Okada Y, Matsumura Y, Tanita T, Kondo T. Diagnostic results before and after introduction of autofluorescence bronchoscopy in patients suspected of having lung cancer detected by sputum cytology in lung cancer mass screening. *Lung Cancer* 2001; 32: 247-253.
66. Scagliotti GV. Symptoms, signs and staging of lung cancer. *Eur Respir Mon* 2001; 17: 86-119.
67. Schöch G, Hoting E. Excretion of RNA catabolites in pregnancy. *Pediatric res*. 1980; 14: 1420.
68. Schram KH. Urinary nucleosides. *Mass Spectrom Rev*. 1998 May-Jun; 17 (3): 131-251.
69. Seidel A, Brunner S, Seidel P, Fritz GI, Herbarth O. Modified nucleosides: an accurate tumor marker for clinical diagnosis of cancer, early detection and therapy control. *Br J Cancer*. 2006 Jun 5; 94 (11): 1726-1733.
70. Shopland DR, Pechacek TF, Cullen JW. Toward a tobacco-free society. *Semin Oncol* 1990; 17: 402-412.
71. Singer CE, Smith GR, Cortese R, Ames BN. Mutant tRNA His ineffective in repression and lacking two pseudouridine modifications. *Nat New Biol*. 1972 Jul 19; 238 (81): 72-74.
72. Smythe WR. Treatment of stage I non-small cell lung carcinoma. *Chest* 2003 (123): 181-187.
73. Statistisches Bundesamt (Zweigstelle Bonn). Todesursachenstatistik Gesundheitsberichterstattung des Bundes. www.gbe-bund.de. 2003.
74. StatSoft, Inc. (2005). STATISTICA für Windows (Software—System für Datenanalyse) Version 7.1. www.statsoft.com.
75. Stringer MR, Moghissi K, Dixon K. Autofluorescence bronchoscopy in volunteer

- asymptomatic smokers. Photodiagnosis Photodyn Ther. 2008 Jun; 5 (2): 148-152. Epub 2008 Jul 7.
76. Tamura S, Fujii J, Nakano T, Hada T, Higashino K. Urinary pseudouridine as a tumor marker in patients with small cell lung cancer. Clin Chim Acta. 1986 Jan 30; 154 (2): 125-132.
77. Tebib JG, Reynaud C, Cedoz JP, Letroublon MC, Niveleau A. Relationship between urinary excretion of modified nucleosides and rheumatoid arthritis process. Br J Rheumatol. 1997 Sep; 36 (9): 990-995.
78. Topp H, Duden R, Schöch G. 5,6-Dihydrouridine: a marker ribonucleoside for determining whole body degradation rates of transfer RNA in man and rats. Clin Chim Acta. 1993 Sep 17; 218 (1): 73-82.
79. Tormey DC, Waalkes TP, Ahmann D, Gehrke CW, Zumwatt RW, Snyder J, Hansen H. Biological markers in breast carcinoma. I. Incidence of abnormalities of CEA, HCG, three polyamines, and three minor nucleosides. Cancer. 1975 Apr; 35 (4): 1095-1100.
80. Travis WD, Brambilla E, Müller-Hermelink HK, Harres CC. Pathology and genetics of tumors of the lung, pleura, thymus and heart. WHO-Classification of Tumors. IARC Press, Lyon 2004.
81. Tsutsiu E, Srinivasan PR, Borek E. tRNA methylases in tumors of animal and human origin. Proc Natl Acad Sci U S A. 1966 Sep; 56 (3): 1003-1009.
82. Umeda N, Suzuki T, Yukawa M, Ohya Y, Shindo H, Watanabe K, Suzuki T. Mitochondria-specific RNA-modifying enzymes responsible for the biosynthesis of the wobble base in mitochondrial tRNAs. Implications for the molecular pathogenesis of human mitochondrial diseases. J Biol Chem. 2005 Jan 14; 280 (2): 1613-1624.
83. Waalkes TP, Dinsmore SR, Mrochek JE. Urinary excretion by cancer patients of the nucleosides N-dimethylguanosine, 1-methylinosine, and pseudouridine. J Natl Cancer Inst. 1973 Jul; 51 (1): 271-274.
84. Weissman S, Eisen AZ, Lewis M, Karon M. Pseudouridine metabolism. III. Studies with isotopically labeled pseudouridine. J Lab Clin Med. 1962 Jul; 60: 40-47.

85. Wichmann HE. Abschätzung positiver gesundheitlicher Auswirkungen durch den Einsatz von Partikelfiltern in Dieselfahrzeugen in Deutschland. Gutachten im Auftrag des Umweltbundesamtes Berlin. 2003. www.umweltbundesamt.org/fpdf-1/2352.pdf.
86. Woolner LB. Pathology of cancers detected cytologically. In: national Cancer Institute, National Institutes of Health, US Department of Health and Human Services (editors), Atlas of Early Lung Cancer. Tokyo: Igaku-Shoin; 1983: 107-213.
87. Zheng YF, Yang J, Zhao XJ, Feng B, Kong HW, Chen YJ, Lv S, Zheng MH, Xu GW. Urinary nucleosides as biological markers for patients with colorectal cancer. World J Gastroenterol. 2005 Jul 7; 11 (25): 3871-3876.

7. ANHANG

Prob.-nr.	Geburtsdatum	Alter	Sex	Gruppe	Prob.datum	CREA	PSI	HS	URI	EMA	EMC	SMG	INO	FMU	EMI	EMG	ZMG	ADE	SMA
2045	23.05.1921	75	w	Blsp	12.03.1996	4912,14	92,94	152,04	209,99	17,36	55,34	3,52	4,44	9,21	43,26	2,12	2,45	44,78	3,57
2044	16.01.1934	62	m	Blsp	12.03.1996	10565,62	913,23	8106,60	18,99	253,85		12,39	22,65	70,77	17,97	15,41	37,06	92,12	14,31
2043	04.12.1954	41	m	Blsp	12.03.1996	11565,33	348,51	23270,66	16,33	64,51		44,59	44,84		64,16	11,48	7,84	21,83	4,72
2051	01.01.1969	27	m	Blsp	12.03.1996	7774,06	1114,17	14370,91	22,45	55,44			4,43	3,15	1,78	1,22		10,61	
2052	01.01.1969	27	w	Blsp	12.03.1996	9216,14	259,86	300,34	524,40	44,00	233,08	8,17	12,10		35,89	3,00	10,50	374,31	8,25
2050	01.01.1972	24	m	Blsp	12.03.1996	13991,17	584,92	972,85	56,22	173,91	545,95	28,06	50,96		105,28	10,59	32,36	131,33	4,97
2048	01.01.1973	23	m	Blsp	12.03.1996	7677,96	207,06	201,25	12,08	39,36	177,53	12,04	24,34		56,90	3,82	16,15	60,30	1,65
2049	01.01.1973	23	m	Blsp	12.03.1996	9193,82	602,74	479,91	57,48	3,02	145,49	10,16	10,35	137,05	46,60	2,61	21,77	97,97	72,25
2047	01.01.1975	21	w	Blsp	12.03.1996	19065,10	2173,56	12350,41	49,06			44,44	27,23	68,85	443,06	69,58	97,42	48,91	14,08
2046	01.01.1976	20	m	Blsp	12.03.1996	9463,26	328,30	364,34	51,76	31,98	11,01	5,81	36,79		42,67	1,67	20,95	71,99	9,76
2060	17.01.1968	28	m	Pharm	25.04.1996	14852,17	1839,68	1768,14	75,18	386,61	420,74	31,80	6,26		76,55	21,61	53,70	49,50	13,40
2070	13.02.1969	27	m	Pharm	14.06.1996	6281,78	273,44	1382,60	21,02	76,00	137,74	3,28	28,00	2,79	18,49	8,14	25,29	26,59	
2067	07.08.1969	27	m	Med	10.06.1996	12128,11	1476,71	1007,50	63,42	151,53	679,74	16,59	37,32	10,88	20,18	20,93	37,77	21,50	2,77
2071	12.07.1970	26	w	Pharm	14.06.1996	10496,20	698,26	5765,39	13,01	146,34	604,95	14,59	9,76	65,53	70,45	20,12	11,70	148,85	6,15
2059	12.02.1971	25	m	Med	17.04.1996	16792,08	1257,63	24592,76	60,78	14,23	644,86	75,38	38,82	59,08	50,89	43,72	80,19	35,71	5,48
2057	13.07.1971	25	w	Med	17.04.1996	7208,42	167,86	6191,13	2,80		210,47		6,91	9,12	41,24	8,41	7,90	1,81	0,83
2056	09.10.1972	24	w	Dent	16.04.1996	15483,60	1239,45	15139,42	26,41			56,86	199,76	3,36	31,35	39,40	94,45		
2068	07.03.1973	23	m	Dent	14.06.1996	7369,94	262,07	641,30	11,64	102,58	137,39	3,84	11,54	2,46	57,25	15,08	11,79	1,98	1,95
2055	15.08.1973	23	w	Dent	16.04.1996	9243,38	375,48	8093,13	22,57	23,28	285,21		23,19	51,87	38,35	6,50	20,45	16,34	5,64
2072	27.12.1973	22	w	Pharm	14.06.1996	6995,76	346,15	204,07	16,61		89,87	8,48	8,30	9,70	39,25	16,25	10,98	43,12	1,74
2061	01.06.1974	22	w	Pharm	25.04.1996	6767,01	171,78	678,05	8,56	2,84	161,32		8,24	5,22	19,08	19,65	3,28		0,87
2069	01.06.1974	22	w	Pharm	14.06.1996	10517,06	388,62	11246,90	11,30		407,69	43,74	17,18	22,50	8,25	22,08	32,45	55,85	
2016	07.06.1957	39	m	Sport	06.01.1996	26670,94	1906,96	3792,78	411,56	192,29	125,31	102,87	711,41		364,23	17,89	59,23	275,42	46,81
2018	29.05.1962	34	m	Sport	06.01.1996	15791,87	383,92	890,32	12,02	34,47	382,80	30,16	151,37		34,69	20,05	3,00	77,30	25,18
2006	30.08.1963	33	m	Sport	01.11.1996	14583,48	709,75	254,05	27,60	93,06	24,61	3,50	184,73	67,81	20,14	51,00	17,63	66,63	
2011	30.12.1964	32	m	Sport	05.11.1996	13156,55	630,10	790,21	55,26	22,22	98,14	17,37	50,88	50,55	145,23	6,49	115,34	131,20	37,88
2020	20.06.1969	27	m	Sport	12.11.1996	13548,39	213,06	340,21	9,03	21,09		15,64	24,37		56,85		4,24	51,94	16,61
2015	17.09.1969	27	m	Sport	06.11.1996	14540,36	945,50	2847,94	190,65	53,04		11,47	13,03	52,99	218,01		7,60	52,88	21,31
2013	03.10.1969	27	m	Sport	05.11.1996	3630,83	34,90	59,17	0,81			1,48	3,61		1,72	7,26	1,15	1,38	0,53
2007	17.08.1971	25	m	Sport	04.11.1996	12508,01	453,36	321,66	71,52	65,74	44,80	20,97	608,85	217,97	100,04		14,75	165,79	1,20
2005	12.09.1971	25	m	Sport	28.10.1996	7376,18	180,42	261,46	23,87	7,05	82,33	17,27	8,73	91,44	52,66	2,75	10,30	70,85	2,17
2010	26.09.1971	25	m	Sport	05.11.1996	10704,30	24,65	320,14	14,65	33,67	14,64	11,04	216,94	19,03	60,81		7,83	32,19	4,37
2003	14.08.1972	24	m	Sport	28.10.1996	11343,93	1011,39	3016,54	233,85	91,96	1,55	60,30	263,05		39,55	1,41	57,14	3,66	1,42
2008	18.05.1973	23	m	Sport	04.11.1996	6165,57	48,37	33,01	3,55	6,93	10,01	3,06	8,96	8,92	1,21	12,57	1,83	16,21	3,12
2009	21.09.1973	23	m	Sport	04.11.1996	15363,99	878,61	2644,55	54,09	134,23	30,74	1,94	395,39	171,94	85,51	35,67	23,52	135,29	23,52
2017	13.06.1974	22	m	Sport	06.11.1996	15205,38	399,57	495,74	95,05	31,54		17,46	162,45		93,91		13,95	105,25	
2002	20.03.1976	21	m	Sport	28.10.1996	705,85	2,67	16,06	0,43	0,56	0,33	0,31	0,97		0,10	0,12	0,23		
2012	03.03.1978	19	m	Sport	05.11.1996	9262,94	410,44	856,98	29,29	2,07		6,54	10,94	45,41	16,13	8,91	11,23	19,26	
2019	18.08.1978	18	m	Sport	06.11.1996	14709,05	276,66	678,51	83,41	27,41		13,81	236,05		112,33		4,10	215,53	
2001	05.09.1978	18	m	Sport	28.10.1996	16327,69	1174,76	318,15	77,99	284,70	823,31	150,00	522,43	22,32	45,09	104,77	134,39	9,63	2,85
2004	09.07.1981	15	m	Sport	28.10.1996	13563,88	829,62	3064,36	58,28	24,63	11,18	37,93	48,86		18,22	18,61	8,44		1,55

Tab. 37 Daten und Messwerte (in mmol/ml) der Kontrollgruppe (n=41)

Prob.-nr.	PSI/Crea	HS/Crea	URI/Crea	EMA/Crea	FMC/Crea	SMG/Crea	INO/Crea	FMU/Crea	EMI/Crea	EMG/Crea	ZMG/Crea	ADE/Crea	SMA/Crea
2045	18,92	30,95	42,75	3,53	11,27	0,72	0,90	1,88	8,81	0,43	0,50	9,12	0,73
2044	86,43	767,26	1,80	24,03		1,17	2,14	6,70	1,70	1,46	3,51	8,72	1,35
2043	30,13	2012,11	1,41	5,58		3,86	3,88		5,55	0,99	0,68	1,89	0,41
2051	143,32	1848,57	2,89	6,87			0,57	0,41	0,23	0,16		1,36	
2052	28,20	32,59	56,90	4,77	25,29	0,89	1,31		3,89	0,33	1,14	40,61	0,89
2050	41,81	69,53	4,02	12,43	39,02	2,01	3,64		7,52	0,76	2,31	9,39	0,36
2048	26,97	26,21	1,57	5,13	23,12	1,57	3,17		7,41	0,50	2,10	7,85	0,21
2049	65,56	52,20	6,25	0,33	15,82	1,10	1,13	14,91	5,07	0,28	2,37	10,66	7,86
2047	114,01	647,80	2,57			2,33	1,43	3,61	23,24	3,65	5,11	2,57	0,74
2046	34,69	38,50	5,47	3,38	1,16	0,61	3,89		4,51	0,18	2,21	7,61	1,03
2060	123,87	119,05	5,06	26,03	28,33	2,14	0,42		5,15	1,46	3,62	3,33	0,90
2070	43,53	220,10	3,35	12,10	21,93	0,52	4,46	0,44	2,94	1,30	4,03	4,23	
2067	121,76	83,07	5,23	12,49	56,05	1,37	3,08	0,90	1,66	1,73	3,11	1,77	0,23
2071	66,53	549,28	1,24	13,94	57,63	1,39	0,93	6,24	6,71	1,92	1,12	14,18	0,59
2059	74,89	1464,55	3,62	0,85	38,40	4,49	2,31	3,52	3,03	2,60	4,78	2,13	0,33
2057	23,29	858,87	0,39		29,20		0,96	1,27	5,72	1,17	1,10	0,25	0,12
2056	80,05	977,77	1,71			3,67	12,90	0,22	2,02	2,54	6,10		
2068	35,56	87,02	1,58	13,92	18,64	0,52	1,57	0,33	7,77	2,05	1,60	0,27	0,26
2055	40,62	875,56	2,44	2,52	30,86		2,51	5,61	4,15	0,70	2,21	1,77	0,61
2072	49,48	29,17	2,37		12,85	1,21	1,19	1,39	5,61	2,32	1,57	6,16	0,25
2061	25,39	100,20	1,27	0,42	23,84		1,22	0,77	2,82	2,90	0,48		0,13
2069	36,95	1069,40	1,07		38,76	4,16	1,63	2,14	0,78	2,10	3,09	5,31	
2016	71,50	142,21	15,43	7,21	4,70	3,86	26,67		13,66	0,67	2,22	10,33	1,76
2018	24,31	56,38	0,76	2,18	24,24	1,91	9,59		2,20	1,27	0,19	4,90	1,59
2006	48,67	17,42	1,89	6,38	1,69	0,24	12,67	4,65	1,38	3,50	1,21	4,57	
2011	47,89	60,06	4,20	1,69	7,46	1,32	3,87	3,84	11,04	0,49	8,77	9,97	2,88
2020	15,73	25,11	0,67	1,56		1,15	1,80		4,20	0,31	0,31	3,83	1,23
2015	65,03	195,86	13,11	3,65		0,79	0,90	3,64	14,99		0,52	3,64	1,47
2013	9,61	16,30	0,22			0,41	0,99		0,47	2,00	0,32	0,38	0,15
2007	36,25	25,72	5,72	5,26	3,58	1,68	48,68	17,43	8,00		1,18	13,25	0,10
2005	24,46	35,45	3,24	0,96	11,16	2,34	1,18	12,40	7,14	0,37	1,40	9,61	0,29
2010	2,30	29,91	1,37	3,15	1,37	1,03	20,27	1,78	5,68		0,73	3,01	0,41
2003	89,16	265,92	20,61	8,11	0,14	5,32	23,19		3,49	0,12	5,04	0,32	0,12
2008	7,85	5,35	0,58	1,12	1,62	0,50	1,45	1,45	0,20	2,04	0,30	2,63	0,51
2009	57,19	172,13	3,52	8,74	2,00	0,13	25,73	11,19	5,57	2,32	1,53	8,81	1,53
2017	26,28	32,60	6,25	2,07		1,15	10,68		6,18		0,92	6,92	
2002	3,79	22,75	0,60	0,80	0,47	0,44	1,37		0,15	0,17	0,33		
2012	44,31	92,52	3,16		0,22	0,71	1,18	4,90	1,74	0,96	1,21	2,08	
2019	18,81	46,13	5,67	1,86		0,94	16,05		7,64		0,28	14,65	
2001	71,95	19,49	4,78	17,44	50,42	9,19	32,00	1,37	2,76	6,42	8,23	0,59	0,17
2004	61,16	225,92	4,30	1,82	0,82	2,80	3,60		1,34	1,37	0,62		0,11

Tab. 38 Messwerte der Kontrollgruppe bezogen auf Kreatinin (in nmol/ μ mol; n=41)

Pat.nr.	Geburtsdatum	Alter	Sex	Krebsart	Stadium	Op.-Termin	O.p. Verfahren	Op.-Dauer	Verlauf	postoperative Überlebenszeit	Sterbedatum
1	18.3.1936	66	w	Adeno-Ca	T4N2M2	25.09.01	Keil-/Segmentres.	30-90 min	verst.	416	15.11.2002
2	23.12.1929	72	w	Adeno-Ca		24.09.01	Keil-/Segmentres.	30-90 min	verst.	11	05.10.2001
4	18.03.1928	74	m	Plattenepithel-Ca.	T2N0M0	16.10.01	Lobektomie	30-90 min	verst.	93	17.01.2002
5	19.1.1935	67	m	Plattenepithel-Ca.	T3N0M0	17.10.01	Lobektomie	30-90 min	überl.		
6	12.01.1941	61	m	Plattenepithel-Ca.	T4N2M0	17.10.01	Pneumektomie	30-90 min	verst.	135	01.03.2002
8	28.08.1935	66	w	Adeno-Ca	T1N0M0	06.11.01	Lobektomie	30-90 min	überl.		
9	08.08.1982	19	m	Benigne Neopl.	T1N0M0	20.11.01	Lobektomie	30-90 min	überl.		
10	15.01.1935	67	m	Plattenepithel-Ca.	T1N2M0	26.11.01	Bilobektomie	30-90 min	verst.	89	23.02.2002
13	10.01.1949	53	m	Adeno-Ca	T2N2M0	21.01.02	Lobektomie	30-90 min	überl.		
14	19.10.1924	77	m	Plattenepithel-Ca.	T1N0M0	04.02.02	Lobektomie	30-90 min	verst.	801	15.04.2004
15	18.08.1936	66	m	Plattenepithel-Ca.	T2N2M0	05.02.02	Pneumektomie	30-90 min	überl.		
16	17.08.1926	76	m	Plattenepithel-Ca.	T2N0M0	18.02.02	Lobektomie	30-90 min	überl.		
17	23.01.1920	82	m	Adeno-Ca	T1N0M0	12.02.02	Keil-/Segmentres.	30-90 min	überl.		
18	23.09.1948	53	m	Adeno-Ca	T1N1M0	19.02.02	Lobektomie	30-90 min	verst.	1030	15.12.2004
19	09.03.1946	56	w	Plattenepithel-Ca.	T1N1M0	13.02.02	Lobektomie	30-90 min	überl.		
20	26.04.1954	48	w	Adeno-Ca	T2N0M0	04.03.02	Lobektomie	30-90 min	überl.		
21	18.08.1933	69	m	Adeno-Ca	T2N0M0	05.03.02	Lobektomie	30-90 min	verst.	1167	15.05.2005
22	24.01.1944	58	m	Adeno-Ca	T2N0M0	06.03.02	Lobektomie	30-90 min	verst.	711	15.02.2004
24	24.01.1937	65	w	Plattenepithel-Ca.	T2N1M0	12.03.02	Lobektomie	30-90 min	überl.		
26	30.12.1938	63	m	Adeno-Ca	T4N2M1	11.03.02	Keil-/Segmentres.	30-90 min	verst.	93	12.06.2002
27	21.05.1933	69	m	Plattenepithel-Ca.	T2N1M1	18.03.02	Pneumektomie	30-90 min	überl.		
28	15.03.1934	68	m	Plattenepithel-Ca.	T1N0M0	20.03.02	Lobektomie	30-90 min	verst.	1305	15.10.2005
29	02.11.1941	60	w	Plattenepithel-Ca.	T1N1M1	19.03.02	Keil-/Segmentres.	30-90 min	verst.	180	15.09.2002
30	13.11.1932	69	m	Plattenepithel-Ca.	T2N0M0	19.03.02	Lobektomie	30-90 min	überl.		
31	23.09.1929	73	m	Adeno-Ca	T2N0M0	25.03.02	Lobektomie	30-90 min	verst.	1788	15.02.2007
35	14.09.1937	65	m	Plattenepithel-Ca.	T2N0M0	26.03.02	Lobektomie	30-90 min	verst.	1269	15.09.2005
36	07.06.1953	49	m	Plattenepithel-Ca.	T2N1M1	26.03.02	Pneumektomie	30-90 min	verst.	812	15.06.2004
37	23.09.1927	75	m	Plattenepithel-Ca.	T2N0M0	02.04.02	Lobektomie	30-90 min	überl.		
39	02.10.1939	63	m	Plattenepithel-Ca.	T2N2M0	08.04.02	Pneumektomie	30-90 min	verst.	574	03.11.2003
40	18.01.1926	76	m	Adeno-Ca	T1N0M0	10.04.02	Keil-/Segmentres.	30-90 min	verst.	645	15.01.2004
42	17.08.1953	49	m	Adeno-Ca	T1N0M0	17.04.02	Lobektomie	30-90 min	überl.		
43	01.02.1943	59	m	Benigne Neopl.	T2N0M0	23.04.02	Keil-/Segmentres.	30-90 min	überl.		
44	15.08.1927	75	m	Plattenepithel-Ca.	T2N0M0	16.04.02	Lobektomie	30-90 min	verst.	547	15.10.2003
45	03.08.1932	70	m	Adeno-Ca	T1N2M0	29.04.02	Lobektomie	30-90 min	verst.	1447	15.04.2006
46	13.11.1932	69	m	Plattenepithel-Ca.	T2N2M2	24.04.02	Lobektomie	30-90 min	überl.		
47	24.01.1942	60	m	Plattenepithel-Ca.	T1N0M0	22.04.02	Lobektomie	30-90 min	überl.		
48	12.05.1933	69	m	Plattenepithel-Ca.	T3N1M0	22.04.02	Pneumektomie	30-90 min	überl.		
49	31.01.1957	45	m	Benigne Neopl.	T1N0M0	06.05.02	Lobektomie	30-90 min	verst.	570	27.11.2003
50	09.09.1926	76	m	Adeno-Ca	T1N0M0	07.05.02	Lobektomie	30-90 min	überl.		

Tab. 39 Relevante Patientendaten inklusive Operationsdatum

Pat.nr.	Geburtsdatum	Alter	Sex	Krebsart	Stadium	Op.-Termin	O.p. Verfahren	Op.-Dauer	Verlauf	postoperative Überlebenszeit	Sterbedatum
51	30.08.1952	50	w	Benigne Neopl.	T1N0M0	06.05.02	Lobektomie	30-90 min	überl.		
52	14.11.1926	76	m	Plattenepithel-Ca.	T1N1M0	08.05.02	Lobektomie	30-90 min	verst.	160	15.10.2002
53	24.04.1940	62	m	Plattenepithel-Ca.	T1N0M0	21.05.02	Lobektomie	30-90 min	überl.		
55	25.07.1932	70	m	Adeno-Ca	T4N0M0	27.05.02	Lobektomie	30-90 min	verst.	202	15.12.2002
58	27.12.1950	51	w	Adeno-Ca	T2N1M0	28.05.02	Lobektomie	30-90 min	verst.	413	15.07.2003
61	13.04.1938	64	m	Plattenepithel-Ca.	T1N0M0	12.06.02	Lobektomie	30-90 min	überl.		
62	15.01.1937	65	m	Plattenepithel-Ca.	T2N0M0	10.06.02	Keil-/Segmentres.	30-90 min	verst.	574	05.01.2004
67	28.10.1934	68	m	Adeno-Ca	T2N0M0	24.06.02	Lobektomie	30-90 min	verst.	539	15.12.2003
68	18.01.1944	58	m	Adeno-Ca	T1N0M0	26.06.02	Lobektomie	30-90 min	verst.	659	15.04.2004
69	30.10.1930	72	m	Adeno-Ca	T3N0M0	27.06.02	Lobektomie	30-90 min	verst.	297	20.04.2003
72	23.07.1924	78	m	Adeno-Ca	T2N0M0	19.07.02	Keil-/Segmentres.	30-90 min	verst.	211	15.02.2003
73	05.09.1931	71	m	Adeno-Ca	T1N0M0	15.07.02	Lobektomie	30-90 min	verst.	1553	15.10.2006
74	21.12.1925	77	m	Plattenepithel-Ca.	T2N1M0	24.07.02	Lobektomie	30-90 min	verst.	284	04.05.2003
77	19.11.1939	63	m	Adeno-Ca	T3N0M0	06.08.02	Pneumektomie	30-90 min	verst.	496	15.12.2003
79	11.05.1927	75	m	Plattenepithel-Ca.	T2N0M0	19.08.02	Lobektomie	30-90 min	überl.		
80	19.12.1926	76	m	Adeno-Ca	T1N0M0	06.08.02	Lobektomie	30-90 min	verst.	1495	09.09.2006
88	05.09.1934	68	m	Plattenepithel-Ca.	T1N0M0	09.09.02	Keil-/Segmentres.	30-90 min	verst.	1063	07.08.2005
89	08.08.1948	54	m	Plattenepithel-Ca.	T1N1M0	04.09.02	Pneumektomie	30-90 min	verst.	664	29.06.2004
90	13.08.1933	69	m	Adeno-Ca	T2N0M0	09.09.02	Keil-/Segmentres.	30-90 min	verst.	97	15.12.2002
92	16.05.1943	59	m	Plattenepithel-Ca.	T2N1M0	11.09.02	Lobektomie	30-90 min	verst.	126	15.01.2003
93	27.02.1940	63	m	Adeno-Ca	T2N0M0	16.09.02	Bilobektomie	30-90 min	überl.		
95	18.05.1926	76	m	Adeno-Ca	T1N0M0	16.09.02	Keil-/Segmentres.	30-90 min	überl.		
96	12.05.1937	65	m	Plattenepithel-Ca.	T2N0M0	16.09.02	Pneumektomie	30-90 min	überl.		
104	20.10.1943	59	m	Plattenepithel-Ca.	T1N0M0	23.10.02	Lobektomie	30-90 min	überl.		
106	01.10.1933	69	m	Plattenepithel-Ca.	T1N0M0	05.11.02	Lobektomie	30-90 min	verst.	1318	15.06.2006
107	26.06.1926	76	m	Plattenepithel-Ca.	T1N0M0	06.11.02	Lobektomie	30-90 min	überl.		

Fortsetzung Tab. 39 Relevante Patientendaten inklusive Operationsdatum

	PSI	HS	URI	EMA	SMG	INO	FMU	EMI	EMG	ZMG	ADE	SMA
verstorben	563,92	291,60	360,78	398,17	2168,25	515,86	618,16	786,20	3345,39	3625,00	597,36	2905,43
überlebend	651,88	268,70	369,44	370,49	2013,76	636,41	816,55	1350,19	3965,13	1274,54	436,12	5132,61
Kontrolle	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100

Tab 40. Relative renale Ausscheidung signifikant erhöhter Nukleoside und HS (in %) der verstorbenen und überlebender Patienten zum präoperativen Zeitpunkt (Klasse 0) im Vergleich zur Kontrollgruppe (Nukleosidkonzentration der Kontrolle = 100%)

	PSI	HS	URI	EMA	SMG	INO	FMU	EMI	EMG	ZMG	ADE	SMA
Kontrolle	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
1	498,09	287,54	244,32	256,53	1229,24	249,06	333,28	628,57	2042,11	1275,65	401,07	44040,28
2	537,44	330,24	283,05	730,13	1308,72	144,94	300,44	915,03	2291,51	809,00	455,09	24025,55
3	595,02	278,70	298,29	533,28	2475,65	197,63	942,14	790,23	3256,64	2099,55	1031,55	26213,97
4	563,64	336,45	278,41	360,98	1877,09	160,05	721,66	1377,59	3039,14	1314,95	715,63	32503,60
5	519,34	294,60	353,76	561,38	3460,71	254,75	432,64	1032,23	4615,20	2024,72	375,29	31765,39
6	603,03	324,37	402,24	482,36	2126,79	237,86	576,52	1841,19	1851,84	2727,85	689,52	21396,51
7	604,85	359,33	250,12	514,10	2037,59	453,04	525,73	918,10	2334,87	1084,14	443,36	8787,23
8	645,45	315,26	469,03	286,71	2060,18	341,40	963,64	724,95	2093,49	1315,54	662,34	4535,92
9	443,14	288,98	239,08	424,23	1272,83	140,99	614,04	402,03	2047,70	1092,55	271,61	26951,09
10	559,81	263,30	288,67	338,31	1429,45	269,25	540,09	728,84	3733,29	1465,06	458,34	11884,39
11	564,60	292,72	980,52	496,24	3017,49	446,95	772,20	978,19	1993,95	2489,82	454,53	6397,05
12	340,47	173,42	1000,23	268,05	864,54	308,76	562,28	448,85	1709,08	1006,63	664,68	3238,32
13	301,27	103,48	1662,76	139,22	1054,01	99,19	638,39	481,48	1080,72	732,44	479,55	1938,21
14	275,45	104,77	1150,81	165,82	513,18	118,84	692,01	446,78	1242,83	1150,20	461,04	832,86

Tab. 41 Relative renale Ausscheidung signifikant erhöhter Nukleoside und HS (in %) aller Patienten im postoperativen Untersuchungszeitraum (Klasse 1-14) im Vergleich zur Kontrollgruppe (Nukleosidkonzentration der Kontrolle = 100%)

	PSI	HS	URI	EMA	SMG	INO	FMU	EMI	EMG	ZMG	ADE	SMA
Kontrolle	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
1	569,16	333,62	231,91	286,66	1477,67	245,36	394,38	637,21	2207,30	1548,75	444,60	51464,74
2	563,25	392,89	266,83	967,71	1405,00	142,58	355,03	900,50	2438,16	757,16	563,41	24862,66
3	579,36	296,93	276,42	430,30	3543,43	181,16	902,09	710,02	4241,97	2842,16	345,44	13220,96
4	531,16	305,82	239,20	443,21	1920,52	166,96	1060,25	2283,09	3744,61	1162,47	1219,66	49219,21
5	495,98	350,58	255,74	712,62	2935,03	282,22	385,78	1308,29	4617,70	2795,55	449,01	49127,95
6	573,83	382,90	322,54	747,68	3346,04	335,27	636,02	1959,31	1768,88	4791,00	265,53	22872,16
7	631,82	346,51	314,63	353,49	2693,14	716,92	351,07	726,83	2658,68	1332,49	443,32	15556,22
8	693,42	376,35	592,14	206,39	2327,54	387,32	804,30	657,05	2349,93	1561,24	639,53	8001,53
9	470,17	276,98	138,30	320,46	1633,33	149,97	601,33	432,90	1941,97	1241,94	294,00	33967,69
10	700,99	273,59	333,95	387,12	1707,92	337,46	680,90	929,66	4585,66	2143,57	694,99	20385,59
11	595,88	312,03	905,37	535,62	3070,55	467,25	829,90	693,24	2527,17	3236,17	448,29	8631,55
12	331,93	153,52	621,75	366,78	878,26	361,07	499,63	453,08	1260,46	1435,67	591,41	5187,55
13	224,16	84,06	1823,22	105,26	1159,97	97,23	527,27	467,04	849,61	332,89	358,59	680,13
14	288,94	98,41	1760,48	150,06	478,63	129,23	939,77	469,76	1145,26	1738,39	727,74	779,37

Tab. 42 Relative renale Ausscheidung signifikant erhöhter Nukleoside und HS (in %) verstorbener Patienten im postoperativen Untersuchungszeitraum (Klasse 1-14) im Vergleich zur Kontrollgruppe (Nukleosidkonzentration der Kontrolle = 100%)

	PSI	HS	URI	EMA	SMG	INO	FMU	EMI	EMG	ZMG	ADE	SMA
Kontrolle	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
1	366,92	191,54	270,15	184,18	709,84	261,19	211,05	611,28	1601,64	797,77	310,37	25891,81
2	495,76	238,68	309,23	298,15	1178,04	148,87	226,35	941,48	2110,99	886,78	300,33	22630,35
3	611,62	259,33	321,61	629,40	1140,99	217,61	984,70	887,63	2195,53	1496,14	1854,88	40135,15
4	591,76	363,92	313,57	284,63	1835,46	154,57	395,58	690,67	2490,39	1467,42	281,13	21574,24
5	554,96	214,64	496,33	303,38	4196,70	219,64	504,03	618,13	4611,51	782,87	271,38	8006,00
6	627,39	278,16	465,15	305,48	1151,41	159,92	531,02	1754,17	1918,16	922,54	1001,92	20117,58
7	575,32	372,82	176,40	683,16	1272,83	142,59	691,67	1139,54	1978,62	783,51	443,41	2018,12
8	605,49	266,91	366,45	359,38	1832,96	301,75	1093,99	789,62	1806,78	1094,41	681,33	1936,68
9	362,12	336,99	541,43	709,56	371,50	108,02	652,20	278,57	2365,07	495,00	204,43	1223,69
10	356,91	248,21	223,55	252,91	942,21	169,58	342,99	434,34	2241,51	605,59	142,81	2075,33
11	496,69	250,42	1134,05	407,08	2903,08	406,35	656,80	1683,05	871,25	748,34	467,27	1339,96
12	347,54	189,71	1312,87	174,52	854,76	272,15	614,02	445,02	2090,46	749,20	722,68	1139,19
13	338,38	112,80	1585,74	156,21	1010,69	100,12	693,97	488,38	1201,32	932,17	537,61	2657,10
14	269,50	107,58	881,41	173,31	530,94	114,24	574,34	434,97	1286,91	817,76	343,19	862,12

Tab. 43 Relative renale Ausscheidung signifikant erhöhter Nukleoside und HS (in %) überlebender Patienten im postoperativen Untersuchungszeitraum (Klasse 1-14) im Vergleich zur Kontrollgruppe (Nukleosidkonzentration der Kontrolle = 100%)

	PSI	HS	URI	EMA	SMG	INO	FMU	EMI	EMG	ZMG	ADE	SMA
Kontrolle	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
0	587,64	248,32	395,98	416,69	2209,78	645,76	712,96	1097,89	4231,45	2100,14	596,00	1380,68
1	494,33	255,29	286,58	315,28	1399,68	288,71	325,78	640,77	1913,09	946,98	456,28	21001,64
2	476,16	243,45	301,58	n.s.	1090,01	138,42	304,44	755,92	2481,18	868,33	311,50	20201,07
3	592,07	230,20	248,70	634,22	2101,70	143,56	1084,37	845,29	3285,26	1830,90	1288,81	32421,94
4	598,98	329,51	282,75	342,41	2250,35	165,18	654,36	851,38	2720,00	1498,46	694,28	29343,34
5	569,95	309,05	345,29	541,56	3960,61	268,88	526,35	554,12	4228,09	1919,45	453,89	30667,79
6	635,47	330,46	343,18	369,93	2703,77	n.s.	360,55	1718,13	2237,57	2107,72	327,22	17775,87
7	694,29	413,93	213,98	658,06	2372,67	420,08	605,43	969,86	2471,71	1283,73	531,50	12998,80
8	681,94	264,10	360,49	358,35	1877,62	242,81	970,63	724,36	1782,24	1453,02	838,62	4457,75
9	415,32	198,01	242,15	506,62	1790,75	n.s.	415,49	427,61	1674,87	1331,17	300,53	52673,58
10	470,95	274,96	n.s.	266,46	2103,35	297,60	512,70	692,72	3662,17	1270,42	302,23	17639,85
11	503,10	271,85	1430,39	563,38	2929,24	307,33	748,01	909,38	1078,62	3769,97	524,78	4347,16
12	390,52	210,09	1141,24	n.s.	859,12	412,19	636,16	519,86	2161,12	1062,84	612,09	4155,79
13	298,15	103,99	1046,38	n.s.	922,22	n.s.	570,54	513,39	963,03	651,07	559,04	2526,20
14	270,03	105,82	1194,61	n.s.	525,62	131,29	627,00	439,01	1237,11	1085,78	446,96	740,83

Tab. 44 Relative renale Ausscheidung signifikant erhöhter Nukleoside und HS (in %) der Patienten mit Lobektomie im gesamten Untersuchungszeitraum (Klasse 0-14) im Vergleich zur Kontrollgruppe (Nukleosidkonzentration der Kontrolle = 100%)

Kontrolle	PSI	HS	URI	EMA	SMG	INO	FMU	EMI	EMG	ZMG	ADE	SMA
	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
0	610,54	202,77	n.s.	n.s.	625,15	268,52	468,63	1269,02	2271,45	1486,78	405,66	16040,61
1	559,35	341,82	n.s.	n.s.	760,23	n.s.	585,64	654,94	3330,53	1416,36	386,73	7144,65
2	496,25	n.s.	n.s.	n.s.	347,16	n.s.	n.s.	n.s.	1680,20	n.s.	n.s.	n.s.
3	500,26	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	568,19	3533,62	n.s.	n.s.	1426,64
4	648,33	380,04	0,00	762,53	1319,62	n.s.	493,14	758,52	2200,59	1576,87	n.s.	5650,98
5	410,83	216,62	348,88	0,00	2105,21	n.s.	n.s.	373,67	3990,39	429,71	n.s.	12425,00
6	454,91	226,26	423,14	n.s.	871,93	209,37	822,46	1300,63	771,05	1030,44	293,21	25954,26
7	433,31	n.s.	230,69	210,32	938,60	550,62	399,42	977,04	1922,37	795,18	339,02	547,16
8	642,29	374,52	308,18	n.s.	1686,87	n.s.	968,17	834,62	3165,92	1017,49	611,46	7211,68
9	433,64	318,34	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	276,73	2638,22	822,35	n.s.	414,30
10	853,88	278,89	402,50	698,64	815,74	245,35	769,85	800,27	4420,66	2250,43	657,98	2210,04
11	704,95	322,08	538,94	377,96	3063,37	275,99	754,64	639,81	3245,59	731,67	290,43	2523,36
12	223,69	n.s.	996,42	0,00	280,28	n.s.	561,06	376,73	1206,97	n.s.	n.s.	1542,47
13	247,76	n.s.	3176,68	0,00	1165,39	n.s.	825,48	479,61	1283,55	954,66	363,09	983,41
14	255,48	100,20	1327,68	n.s.	591,65	n.s.	841,27	550,25	1380,46	1512,27	384,06	836,35

Tab. 45 Relative renale Ausscheidung signifikant erhöhter Nukleoside und HS (in %) der Patienten mit Pneumektomie im gesamten Untersuchungszeitraum (Klasse 0-14) im Vergleich zur Kontrollgruppe (Nukleosidkonzentration der Kontrolle = 100%)

Kontrolle	PSI	HS	URI	EMA	SMG	INO	FMU	EMI	EMG	ZMG	ADE	SMA
	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
0	575,57	291,58	468,27	353,52	1850,19	737,36	859,22	858,12	3197,43	1847,75	643,13	5901,64
1	557,54	269,35	300,07	377,97	1094,95	306,89	441,31	716,03	3542,24	1757,29	567,16	55087,77
2	514,57	339,42	254,84	n.s.	995,69	196,23	363,82	937,38	2566,18	823,40	571,75	33090,50
3	598,75	298,51	268,97	622,07	1381,98	186,35	983,04	850,80	2823,82	1605,32	1380,88	30351,42
4	590,54	347,06	349,37	482,92	2027,54	157,73	714,50	906,99	3550,92	1568,88	588,54	40302,40
5	434,93	327,84	320,19	n.s.	1414,89	225,37	424,53	662,29	4886,84	1272,69	336,05	31022,71
6	634,44	273,39	388,99	312,39	1496,49	157,41	733,62	2265,55	2074,34	842,75	346,60	28013,10
7	553,14	364,07	162,52	519,26	1684,58	199,74	531,21	1185,47	2702,63	1106,86	492,59	7611,68
8	605,38	345,63	311,81	n.s.	1599,95	238,75	776,16	783,99	2155,79	1027,71	674,81	3391,48
9	417,57	329,09	215,16	n.s.	1070,81	n.s.	403,04	363,73	2347,17	974,60	285,09	11115,50
10	592,00	203,21	252,98	369,61	1195,85	273,76	595,49	787,15	4218,68	1714,49	608,65	2244,00
11	595,01	313,81	737,42	391,63	2513,18	264,19	872,82	818,56	2327,17	816,22	474,28	8739,41
12	350,65	n.s.	1034,59	n.s.	861,88	302,68	267,39	436,12	1094,01	829,08	515,43	4402,40
13	351,49	122,89	2135,72	n.s.	1020,68	n.s.	927,66	624,24	1280,66	871,74	744,26	914,63
14	263,47	108,09	1219,12	n.s.	592,72	132,42	665,18	471,43	1271,64	1211,54	486,70	971,29

Tab. 46 Relative renale Ausscheidung signifikant erhöhter Nukleoside und HS (in %) der Patienten mit Plattenepithelkarzinom im gesamten Untersuchungszeitraum (Klasse 0-14) im Vergleich zur Kontrollgruppe (Nukleosidkonzentration der Kontrolle = 100%)

	PSI	HS	URI	EMA	SMG	INO	FMU	EMI	EMG	ZMG	ADE	SMA
Kontrolle	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
0	657,16	258,38	225,38	451,59	2579,90	363,98	524,40	1324,01	4446,78	4006,09	400,50	1232,75
1	453,87	264,65	198,43	n.s.	806,49	n.s.	n.s.	513,19	745,53	833,44	n.s.	31098,91
2	542,29	291,03	374,08	n.s.	1661,30	n.s.	239,26	917,35	2192,11	832,17	323,40	10260,92
3	587,86	239,08	359,86	n.s.	4066,51	215,48	870,59	680,08	4122,30	2908,27	420,22	18352,84
4	518,24	343,13	n.s.	207,51	1537,91	148,40	893,30	2382,00	2321,78	1136,53	1058,39	22561,68
5	613,23	279,65	406,21	647,03	6208,40	278,35	423,66	1548,01	2478,62	3204,36	466,06	37638,65
6	608,37	385,97	271,08	628,08	2809,25	351,01	381,22	1529,62	1738,62	4931,71	1070,67	15662,01
7	684,71	330,86	377,22	532,09	2669,64	824,55	534,89	601,05	1896,71	1089,91	398,85	10403,49
8	769,28	321,72	956,13	357,20	3332,64	613,50	1641,20	630,31	1625,20	2032,85	820,53	7862,55
9	523,67	268,89	296,13	679,03	1707,71	n.s.	906,51	480,37	1835,07	1387,10	283,95	49722,93
10	568,86	371,67	n.s.	n.s.	2311,48	362,99	416,94	731,73	2608,29	1231,71	191,10	54258,84
11	501,37	276,05	1552,02	660,52	3831,58	793,13	654,34	1316,85	1404,28	5621,54	466,84	3023,25
12	320,50	201,02	1058,09	n.s.	442,21	n.s.	945,85	451,82	2554,74	1267,56	925,78	2215,28
13	260,39	84,61	1114,50	n.s.	1132,59	n.s.	319,98	339,97	800,59	632,89	245,52	3014,30
14	315,07	104,04	1400,62	n.s.	447,32	n.s.	923,36	447,64	1087,30	1304,27	544,05	706,00

Tab. 47 Relative renale Ausscheidung signifikant erhöhter Nukleoside und HS (in %) der Patienten mit Adenokarzinom im gesamten Untersuchungszeitraum (Klasse 0-14) im Vergleich zur Kontrollgruppe (Nukleosidkonzentration der Kontrolle = 100%)

	PSI	HS	URI	EMA	FMC	SMG	INO	FMU	EMI	EMG	ZMG	ADE	SMA
Verstorbene Patienten	5,40	2,95	5,39	4,47	2,26	21,60	3,28	6,50	8,98	27,71	22,34	5,55	203,87
Überlebende Patienten	4,83	2,34	6,42	3,22	2,48	15,48	2,35	6,19	8,47	21,27	9,61	5,23	92,45
Kontrolle	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1

Tab. 48 Relative Mittelwerte der Nukleosidkonzentrationen verstorbener und überlebender Patienten im gesamten Untersuchungszeitraum (Klasse 0-14)

	PSI	HS	URI	EMA	FMC	SMG	INO	FMU	EMI	EMG	ZMG	ADE	SMA
Verstorbene Patienten	5,84	3,30	4,08	4,98	2,18	24,10	3,32	6,49	9,99	30,55	22,01	5,43	263,35
Überlebende Patienten	5,38	2,78	4,31	3,87	2,43	18,40	2,20	5,89	9,53	22,17	9,69	5,48	128,75
Kontrolle	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1

Tab. 49 Relative Mittelwerte der Nukleosidkonzentrationen verstorbener und überlebender Patienten in den ersten drei postoperativen Monaten (Klasse 1-11)

	PSI	HS	URI	EMA	FMC	SMG	INO	FMU	EMI	EMG	ZMG	ADE	SMA
Verstorbene Patienten	2,90	1,13	13,43	2,12	1,92	6,45	1,72	6,74	4,54	10,68	8,50	5,87	18,73
Überlebende Patienten	3,08	1,29	11,85	1,69	2,63	7,54	1,47	6,19	4,53	14,53	8,26	4,95	14,91
Kontrolle	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1

Tab. 50 Relative Mittelwerte der Nukleosidkonzentrationen verstorbener und überlebender Patientenab dem dritten postoperativen Monat (Klasse 12-14)

8. DANKSAGUNG

9. ERKLÄRUNG ÜBER DIE EIGENSTÄNDIGE ABFASSUNG DER ARBEIT

Hiermit erkläre ich, dass ich die vorliegende Arbeit selbständig und ohne unzulässige Hilfe oder Benutzung anderer als der angegebenen Hilfsmittel angefertigt habe. Ich versichere, dass Dritte von mir weder unmittelbar noch mittelbar geldwerte Leistungen für Arbeiten erhalten haben, die im Zusammenhang mit dem Inhalt der vorgelegten Dissertation stehen, und dass die vorgelegte Arbeit weder im Inland noch im Ausland in gleicher oder ähnlicher Form einer anderen Prüfungsbehörde zum Zweck einer Promotion oder eines anderen Prüfungsverfahrens vorgelegt wurde. Alles aus anderen Quellen und von anderen Personen übernommene Material, das in der Arbeit verwendet wurde oder auf das direkt Bezug genommen wird, wurde als solches kenntlich gemacht. Insbesondere wurden alle Personen genannt, die direkt an der Entstehung der vorliegenden Arbeit beteiligt waren.

.....

Datum

.....

Unterschrift

10. CURRICULUM VITAE